AUTORADIOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNG ZUR DNA-SYNTHESE IN DER TEILRESEZIERTEN LEBER NACH APPLIKATION VON DIÄTHYLNITROSAMIN

Walter Ringelmann

1972

AUTORADIOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNG ZUR DNA-SYNTHESE IN DER TEILRESEZIERTEN LEBER NACH APPLIKATION VON DIÄTHYLNITROSAMIN

Walter Ringelmann

Aus dem Pathologischen Institut der Universität München

Direktor: Professor Dr. Max Eder

Autoradiographische Untersuchung zur DNA-Synthese in der teilresezierten Leber nach Applikation von Diaethylnitrosamin

Inauguraldissertation zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Walter Ringelmann

aus München

München 1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität München

Referent: Professor Dr. Hartmut Rabes

Correferent: Professor Dr. Max Eder

Dekan: Professor Dr. Wolfgang Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 24. Oktober 1972

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung 3

II. Material und Methode 5

1. Versuchstiere
2. Operationsmethode
3. Cancerogen
4. Radioaktive Isotope 6
5. Behandlung der Versuchstiere
   a) Einmalige Zweidrittelresektion der Leber (Gruppe A)
   b) Zweimalige Teilresektion der Leber im Abstand von 28 Tagen (Gruppe B)
   c) Zweimalige Teilresektion der Leber im Abstand von 28 Tagen und Applikation von Diaethyl - nitrosamin, vier Stunden nach der ersten Teilresektion (Gruppe C)
   d) Zweimalige Teilresektion der Leber im Abstand 7
   von 28 Tagen und Applikation von Diaethyl - nitrosamin 24 Stunden nach der ersten Teilresektion (Gruppe D)
6. Unterteilung der einzelnen Gruppen in Untergruppen und deren Behandlung
7. Kontrolltiere zu den Gruppen A - D 8
8. Tötungszeitpunkt der Versuchstiere und weitere Be- 9
   handlung der entnommenen Leber (Autoradiographie)
9. Bestimmung der ^{3}H - Thymidin - Markierung der Le- 1o
   berparenchymzellen
10. Verfahren bei nekrotischen Leberlappen
11. Bestimmung der Lokalisation markierter Hepatozyten 11
    innerhalb des Leberlobulus

12. Statistische Auswertung

III. Ergebnisse: 12

1. Markierungs- und Mitoseindices und Topik der markierten Hepatozyten bei einmaliger Zweidrittelresektion der Leber (Gruppe A)

2. Markierungs- und Mitoseindices und Topik der markierten Hepatozyten bei zweimaliger Teilresektion der Leber im Abstand von 28 Tagen (Gruppe B) 14

3. Markierungs- und Mitoseindices und Topik der markierten Hepatozyten bei zweimaliger Teilresektion der Leber im Abstand von 28 Tagen und Applikation von Diaethylnitrosamin vier Stunden nach der ersten Teilresektion (Gruppe C) 17

4. Markierungs- und Mitoseindices und Topik der markierten Hepatozyten bei zweimaliger Teilresektion der Leber im Abstand von 28 Tagen und Applikation von Diaethylnitrosamin 24 Stunden nach der ersten Teilresektion (Gruppe D) 2o

5. Weitere ergänzende Einzelergebnisse 23

IV. Diskussion der Ergebnisse 25

V. Zusammenfassung 52

VI. Literaturverzeichnis 54

I. E i n l e i t u n g

Das normale Leberparenchym erwachsener Ratten hat nur eine geringe Ruheproliferation.Eine Zweidrittelresektion der Leber führt zu einem starken kompensatorischen Anstieg DNA- synthetisierender Hepatozyten (Grisham 1962 , Oehlert et al. 1962, Bucher 1963, Rabes et al. 1965, Fabrikant 1968, Rabes und Brändle 1968) . Diese Zellvermehrung erfolgt partiell synchronisiert (Rabes und Tuczek 197o). Die einzelnen Phasen der Regeneration sind charakterisiert durch ein Ansteigen der RNA - Syntheserate von der zweiten Stunde nach Teilresektion an,der DNA - Syntheserate von der 16. Stunde nach Teilresektion an und der Proteinsyntheserate von der zweiten Stunde nach Teilresektion an (Rabes und Brändle 1969) , und eine beginnende Mitoseaktivität von der 24. Stunde nach Teilresektion an (Bucher 1963). Damit steht ein Modellsystem in vivo zur Verfügung,die Wirkung eines Cancerogens in spezifischen Perioden des Zellzyklus zu prüfen. Verschiedene Intervalle zwischen Teilhepatektomie und Gabe des Carcinogens könnten über verschiedenartige Wirkungen auf die genetische und enzymatische Substanz der Hepatozyten zu Veränderungen der Proliferation nach einer zweiten Teilhepatektomie führen im Vergleich zu einer Kontrollgruppe von Tieren,die ebenfalls zweimal teilhepatektomiert wurden, denen aber kein Cancerogen appliziert wurde. Es wird diskutiert (Schmähl,Preußmann und Hamperl 196o , Druckrey et al. 1967, Magee und Barnes 1967) ,daß der Angriffspunkt des in unserem Versuch verwendeten Diaethylnitrosamins (im Folgenden " Daena " genannt) in der Zelle die Nukleinsäuren

(DNA und RNA) sind, die möglicherweise am Guanin in Stellung 7 durch ein Abbauprodukt des Daena, wahrscheinlich das Diazoalkan, zu 7 - Alkylguanin alkyliert werden. (Druckrey et al.,1967; Magee und Barnes 1967). Bei Replikation einer so veränderten DNA, die durch eine zweite Teilhepatektomie induziert wird, könnte sich das entstandene 7 - Alkylguanin mit einer "falschen" Base (Thymidin) paaren, während das unveränderte Guanin mit Cytosin ein Basenpaar gebildet hätte. Eine solche Änderung des genetischen Codes, die eine Änderung der messenger - RNA und der enzymatischen Substanz der Hepatozyten zur Folge hätte, könnte in direktem Zusammenhang mit der Cancerisierung stehen, falls zelleigene Reparationsmechanismen die Schädigung nicht ausgleichen können.
Ziel dieser Arbeit war es, durch Injektion des Lebercarcinogens Diaethylnitrosamin in verschiedenen für den Proliferationsverlauf charakteristischen Zeitintervallen nach partieller Hepatektomie mögliche Unterschiede im Ablauf der Regeneration nach einer erneuten partiellen Hepatektomie zu bestimmen.

II Material und Methode

1) Versuchstiere :

Es wurden 100 männliche Ratten eigener Zucht (Wistar AF/Han) mit einem Körpergewicht von 180 - 205g verwendet. Die Tiere erhielten Wasser und Futter (Altromin - Standard - Diät) ad libitum. 78 Tiere überlebten bis zum Ende des Versuches.

2) Operationsmethode:

Die erste Teilresektion der Leber erfolgte nach der Methode von Higgins und Anderson (1932) durch Ligierung und Resektion des mittleren und seitlichen linken Lappens. Diese beiden Lapren entsprechen etwa 68 % des Lebergesamtgewichtes (Bucher und Swaffield,1964)

Bei der zweiten Teilresektion wurde der rechte vordere Lappen ligiert und abgetragen. Das Feuchtgewicht dieser resezierten Lappen betrug im Mittel 3.816 g. Im Verhältnis zu einem an vier anderen Tieren gewonnenen mittleren Lebergesamtgewicht entsprach dies 46.7 % des Gewichtes der regenerierten Leber.

3) Cancerogen:

Als Cancerogen wurde N - Nitroso - diäthylamin (Schuchart,München) verwendet.Ein ml N - Nitroso - diäthylamin (im Folgenden "Daena" genannt) mit einem spezifischen Gewicht von 0.94 wurde in 118 ml 0.9 prozentiger steriler Kochsalzlösung gelöst. Den Versuchstieren wurde jeweils 2.0 ml dieser Lösung und somit 16 mg Daena pro Tier, intra-

peritoneal injiziert. Bei einem Durchschnittsgewicht der Versuchstiere von 200 g entspricht die Menge von 16 mg Daena pro Tier einer Dosis von 80 mg Daena pro Kilogramm Körpergewicht.

4. Radioaktive Isotope

Zur autoradiographischen Markierung wurde den Versuchstieren 60 Minuten vor der Tötung 0.8 µC/ g Körpergewicht Thymidin - 6 - ^{3}H (spezifische Aktivität 5 Ci/mM, Radiochemical - Center, Amersham) in 1 ml Hankslösung intraperitoneal injiziert.

5. Behandlung der Versuchstiere:

a) Einmalige Zweidrittelresektion der Leber (Gruppe A): 23 Tiere wurden in Äthernarkose zwischen 10.00 Uhr und 12.00 Uhr zu zwei Dritteln hepatektomiert(nach der Methode von Higgins und Anderson,1932).

b) Zweimalige Teilresektion der Leber im Abstand von 28 Tagen (Gruppe B):
An 21 Tieren erfolgte die erste Teilhepatektomie zwischen 10.00 Uhr und 12.00 Uhr unter Anwendung dergleichen Methode wie bei Gruppe A. 28 Tage später wurde eine zweite Teilhepatektomie zwischen 12.50 Uhr und 23.30 Uhr an acht Tieren, bzw. 29 Tage später zwischen 9.00 Uhr und 19.20 Uhr an zehn Tieren durchgeführt. Dabei wurde der rechte vordere Lappen, der etwa 45 - 50% des regenerierten Gesamtparenchyms betrug, abgetragen.

c) Zweimalige Teilresektion der Leber im Abstand von 28 Tagen und Applikation von Daena vier Stunden nach der ersten Teilresektion (Gruppe C):
An 16 Tieren erfolgte die erste Teilhepatektomie zwischen 10.00 Uhr und 12.00 Uhr unter Anwendung

dergleichen Methode wie bei Gruppe A und B . Vier Stunden nach Teilresektion wurde jedem Versuchstier 16 mg Daena in 2.0 ml 0.9 prozentiger Kochsalzlösung intraperitoneal injiziert. Eine zweite Teilhepatektomie erfolgte 26 Tage später zwischen 13.30 Uhr und 0.15 Uhr an neun Tieren bzw. 27 Tage später zwischen 9.30 Uhr und 19.45 Uhr an sieben Tieren unter Anwendung dergleichen Methode wie bei Gruppe B. Das Gewicht dieser resezierten Lappen betrug im Mittel 4.207 g, entsprechend 51.8% des Gesamtgewichtes der Leber.

d) Zweimalige Teilresektion der Leber im Abstand von 28 Tagen und Applikation von Daena 24 Stunden nach der ersten Teilresektion (Gruppe D):
An 18 Tieren wurde die erste Teilhepatektomie zwischen 10.00 Uhr und 13.00 Uhr unter Anwendung dergleichen Methode wie bei den Gruppen A,B, und C vorgenommen. 24 Stunden nach der Teilresektion wurde jedem Versuchstier 16 mg Daena in 2.0 ml 0.9 prozentiger Kochsalzlösung intraperitoneal injiziert. Eine zweite Teilresektion wurde 27 Tage später zwischen 14.00 Uhr und 14.30 Uhr an vier Tieren bzw. 28 Tage später zwischen 0.15 Uhr und 20.00 Uhr an 13 Tieren unter Anwendung dergleichen Methode wie bei Gruppe B und C vorgenommen. Das Gewicht dieser Leberlappen betrug im Mittel 4.137 g, was 50.7% des Gewichtes der Gesamtleber entsprach.

6. Unterteilung der einzelnen Gruppen in Untergruppen und deren Behandlung:

Von allen Gruppen wurden 3 - 6 Tiere zu je einer Untergruppe I - IV zusammengefaßt und in verschiedenen Ab - ständen nach der ersten Teilhepatektomie (Gruppe A) bzw. der zweiten Teilhepatektomie (Gruppe B,C und D)

mit 0.8 µC Thymidin - 6 - H^3 pro g Körpergewicht in 1 ml Hankslösung intraperitoneal injiziert und 6o Minuten später getötet.

Die Thymidin - 6 - H^3 (im Folgenden TdR-H^3 abgekürzt) - Injektion erfolgte bei Untergruppe

I 15 Stunden nach erster (Gruppe A) bzw.zweiter Teilhepatektomie (Gruppe B,C und D),

II 25 Stunden nach erster (Gruppe A) bzw. zweiter Teilhepatektomie (Gruppe B,C und D),

III 35 Stunden nach erster (Gruppe A) bzw. zweiter Teilhepatektomie (Gruppe B,C und D),

IV 45 Stunden nach erster (Gruppe A) bzw. zweiter Teilhepatektomie (Gruppe B, C und D).

(Zeitplan siehe Tabelle 1o).

7)Kontrolltiere zu den Gruppen A-D

Zusätzlich wurde neben jeder Gruppe eine Untergruppe O als Kontrollgruppe mit folgender Behandlung geführt:

1. Gruppe A_0: Bei Gruppe A_0 wurde keine Teilhepatektomie vorgenommen und kein Daena appliziert, jedoch 0.8 µC Thymidin -6- H^3 pro g Körpergewicht 60 Minuten vor der Tötung injiziert.

2. Gruppe B_0: Bei Gruppe B_0 wurde eine Teilhepatektomie mit Entfernung des mittleren und linken seitlichen Lappens durchgeführt und 0.8 µC Thymidin -6- H^3 pro g Körpergewicht vier Wochen später injiziert.

3. Gruppe C_0: Bei Gruppe C_0 wurde die erste Teilhepatektomie wie bei Gruppe B_0 vorgenommen und vier Stunden später 16 mg Daena appli-

ziert. Eine Thymidin - 6 - H^3- Injektion erfolgte wie bei Gruppe BO vier Wochen später. (kein Tier überlebt.)

4. Gruppe DO : Bei Gruppe DO wurde die erste Teilhepatektomie wie bei Gruppe BO durchgeführt und 24 Stunden später 16 mg Daena appliziert. Eine Thymidin - 6 - H^3-Injektion erfolgte wie bei Gruppe BO und CO vier Wochen später.

8) Tötungszeitpunkt der Versuchstiere und weitere Behandlung der entnommenen Leber :

Der Tötungszeitpunkt (eine Stunde nach TdR - H^3- Injektion) lag zwischen 10.00 Uhr und 11.30 Uhr. Die Leber wurde in 10-prozentigem neutralen Formalin unter Zusatz von 0.1 mg Thymidin pro ml fixiert, dann in Paraffin eingebettet und zur Autoradiographie an fünf μ m - Schnitten mit K - 2 - Emulsion (Ilford,England) beschichtet. Die Expositionszeit betrug 21 Tage bei 4^{o} C. Die Präparate wurden dann mit Hämalaun (zehn Minuten) und Eosin (fünf Sekunden) gefärbt.

9) Bestimmung der ^3H - Thymidin - Markierung und des Mitose-Index der Leberparenchymzellen :

Markierungs- und Mitoseindex wurden durch Auszählung von je 7000 Leberparenchymzellen des Lobus dextrolateralis und des Processus papillaris eines Präparates bei 1000 - facher Vergrößerung mit Ölimmersion bestimmt.

10) Verfahren bei nekrotischen Leberlappen:

Bei einigen Tieren traten durch offensichtlich ungünstige Lage der Ligatur der ersten Teilhepatektomie verschieden

umfangreiche Nekrosen in den Lobus dextrolaterales auf, die zwischen 19% und 100 % des Gesamtparenchyms dieses Lappens umfaßten. Das Ausmaß dieser Nekrosen wurde planimetrisch unter dem Zeichenmikroskop bei vierzigfacher Vergrößerung bestimmt und in % der Gesamtfläche des Lobus dextrolateralis angegeben. Der gesamte Lappen wurde abgezeichnet und der Umfang der Nekrosen eingezeichnet, sodann der Umfang des Lappens und der Gesamtumfang aller Nekrosen durch Planimetrie bestimmt und daraus der prozentuale Anteil der Nekrosen auf dem Schnitt (zweidimensional) errechnet. Bei solchen nekrotischen Lobus dextrolaterales wurden dann je 7000 Parenchymzellen der Processus papillares ausgezählt und die gefundenen Werte der Mitose- und Markierungsindices in prozentuale Relation zu den Mittelwerten der Processus papillares der restlichen Tiere dergleichen Gruppe gesetzt, bei denen keine Nekrosen auftraten.

11) Bestimmung der Lokalisation markierter Hepatozyten innerhalb des Lobulus :

Unter 100 - facher Mikroskopvergrößerung wurden die Präparate betrachtet und die Verteilung der markierten Zellen ohne genaue Zählung und Messung den ebenfalls ohne genaue Messung festgelegten fiktiven zentralen, intermediären und peripheren Dritteln eines Lobulus zugeteilt und notiert. Eine statistische Erfassung folgte nicht.(siehe Photographien der einzelnen histologischen Ausschnitte)

12) Statistische Auswertung:

Aus allen Untergruppen bzw. Kontrollgruppen (mit Ausnahme der unter 10. genannten nekrotischen Lobus dextro-

laterales wurden die unmarkierten TdR - H^3- markierten und in Mitose befindlichen Leberparenchymzellen bis zu einer Gesamtzahl von 7000 pro Untergruppe ausgezählt. Als markiert galt eine Zelle bei einer Silberkornzahl von mehr als sechs pro Zellkern. Die Werte der markierten Zellen und der in Mitose befindlichen Zellen wurden in Relation zur Gesamtzahl der ausgezählten Zellen(7000) einer Untergruppe gesetzt und damit ihr prozentualer Anteil an der gesamten Parenchym menge ermittelt. Aus den einzelnen Werten einer Untergruppe wurde das arithmetische Mittel errechnet. Weiterhin wurde noch der mittlere Fehler des Mittelwertes jeder Untergruppe bestimmt.

III Ergebnisse:

Bei allen Gruppen findet sich im Zeitraum bis zur 15. Stunde nach der Operation ein sehr geringer Markierungsindex und Mitoseindex, der sogar noch etwas unter den Werten der Kontrollen liegt. Zwischen der 15. und 25. Stunde findet sich ein steiler Proliferationsanstieg bei allen Gruppen. Von diesem Zeitpunkt an ist das Syntheseverhalten in den einzelnen Gruppen unterschiedlich.

1. Markierungs- und Mitoseindex und Topik der markierten Hepatozyten bei einmaliger Zweidrittelresektion der Leber (Gruppe A) :

In Gruppe A findet sich bei den Lobus dextrolaterales (siehe Tabelle 1 und Abbildung 1 und 5) der höchste Markierungsindex mit 20.74 %(± 1.86%) markierter Zellen in der 25. Stunde. Danach sinkt die Anzahl markierter Hepatozyten auf 11.78 % (± 1.91 %) in der 35. Stunde, anschließend weiter auf 8.86 % (± 0.46 %) in der 45. Stunde, was etwa noch dem 60 -fachen des Kontrollwertes von 0.15 % entspricht.

Die Werte des Markierungsindex der Processus papillares verlaufen nahezu denen der Lobus dextrolaterales gleich, jedoch relativ niedriger.(siehe Tabelle 2 und Abbildung 1 und 7)

In der 15. Stunde liegen die Werte der markierten Hepatozyten mit 0.03 % (±0.03 %) deutlich unter den Kontrollwerten von 0.10 % (± 0.04 %). Darauf folgt wie bei den Lobus dextrolaterales ein starker Anstieg der Markierungswerte auf

17.46 % (± 2.20 %) in der 25. Stunde, dann ebenfalls ein starkes Absinken auf 9.54 % (± 1.52 %) in der 35. Stunde und ein weiteres Absinken auf 7.83 % (± 0.93 %) in der 45. Stunde, was noch dem 78 - Fachen des Kontrollwertes entspricht.

Der Markierungsindex der Processus paillares beträgt somit in der 15. Stunde nur 47 % des Wertes der Lobus dextrolaterales, in der 25. Stunde nur 84 %, in der 35. Stunde 81 % und in der 45. Stunde 87 % des Wertes der Lobus dextrolaterales.

Der Kontrollwert der Processus papillares beträgt 66 % des Kontrollwertes der Lobus dextrolaterales.

Die Zahl der Mitosen der Lobus dextrolaterales (siehe Tabelle 1 und Abbildung 6) liegt in der 15. Stunde mit 0.06 % (± 0.02 %) ebenfalls unter dem Kontrollwert von 0.11 %(± 0.06 %),erreicht ihren Gipfel ebenfalls in der 25. Stunde mit 2.86 % (± 0.35 %),fällt dann in der 35. Stunde leicht auf 2.59 %(± 0.37 %) und in der 45. Stunde stärker auf 1.55 % (± 0.10 %) ab, was noch dem 14 - Fachen des Kontrollwertes entspricht.

Bei den Processus papillares(siehe Tabelle 2 und Abbildung 7 und 8) liegt der 15 - Stunden - Wert mit 0.03 % (± 0.01 %) wieder deutlich unter dem Kontrollwert von 0.11 % (± 0.02%), der 25 - Stunden - Wert beträgt 1.89 % (± 0.32 %), der 35 - Stunden - Wert liegt mit 2.02 % (± 0.38 %) noch höher, während der 45 - Stunden - Wert mit 1.76 % (± 0.24 %) wieder darunter liegt und dem 16 - Fachen des Kontrollwertes entspricht.

Der Mitoseindex erreicht somit im Ruhestadium 110% des Wertes der Lobus dextrolaterales, in der 15.Stunde 50 %, in der 25. Stunde 68 %, in der 35. Stunde 77 % und in der 45. Stunde 114 % des Wertes der Lobus-dextrolaterales.

Histologisch finden sich die markierten Hepatozyten bei der Kontrollgruppe und nach 15 Stunden wahllos über das Parenchym verteilt, während nach 25 Stunden die Hepatozyten der Peripherie der Leberlobuli die höchsten Markierungsindices aufweisen. Nur eine geringe Zahl markierter Hepatozyten findet sich im zentralen Drittel, in der 35. Stunde liegt das Maximum der Markierung im zentralen Drittel, nach 45 Stunden sind die TdR - H^3- markierten Hepatozyten gleichmäßig über das gesamte Läppchen verteilt.

2. Markierungs- und Mitoseindex und Topik der markierten Hepatozyten bei zweimaliger Teilresektion der Leber im Abstand von 28 Tagen (Gruppe B)

In Gruppe B findet sich bei den Lobus dextrolaterales im Vergleich zu denen der Gruppe A ein wesentlich flacherer Anstieg der DNA - Synthese (Siehe Tabelle 3 und Abbildung 2 und 5) zwischen 15. Stunde mit 0.10 % ($\pm$ 0.02 %) und 25. Stunde mit 12.65% ($\pm$ 1.78 %) markierter Zellen, was nur etwa 2/3 des Wertes bei Gruppe A entspricht, dann ein weiterer Anstieg auf 14.30 % ($\pm$ 2.19 %) in der 35. Stunde, ein leichter Abfall auf 12.8 % ($\pm$ 1.78 %)in der 45. Stunde. Dieser Wert liegt noch über dem 25-Stunden-Wert und beträgt etwa das 80 - Fache des Kontrollwertes von 0.16 % ($\pm$0.07 %).

Bei den Processus papillares verläuft der Anstieg der DNA - Synthese noch flacher (Siehe Tabelle 4 und Abbildung 2 und 7): In der 15. Stunde sind 0.07 % (± 0.03 %) der Hepatozyten markiert, in der 25. Stunde 7.53 %(± 2.72%) und 14.06 % (± 2.30%) in der 35. Stunde, worauf die Anzahl markierter Hepatozyten dann langsam auf einen 45 - Stunden - Wert von 12.55 % (± 0.38 %) abfällt, was dem 89 - Fachen des Kontrollwertes von 0.14 % entspricht.

Die Markierungswerte der Processus papillares sind bei der Kontrollgruppe mit 87 % der Werte der Lobus dextrolaterales niedriger als die Werte der Lobus dextrolaterales, ebenso in der 15. Stunde mit 70 %, in der 25. Stunde mit 59 %, in der 35. Stunde mit 98 % und in der 45. Stunde ebenfalls mit 98 %.

Die Mitoseindices der Lobus dextrolaterales(Siehe Tabelle 3 und Abbildung 5) zeigen folgenden Verlauf:
In der 15. Stunde liegen sie mit0.11 % (± 0.02 %) den Kontrollwerten mit 0.11 % (± 0.02 %) gleich und steigen in der 25. Stunde auf 1.81 %(± 0.43%) an. In der 35. Stunde liegen sie mit 1.83 % (± 0.30 %) fast den 25 - Stunden - Werten gleich und sinken dann in der 45. Stunde auf 1.40 % (± 0.09 %) ab, was noch dem 13 - Fachen des Kontrollwertes entspricht.

Die Mitoseindices der Processus papillares verhalten sich ähnlich(Siehe Tabelle 4 und Abbildung 8) :
Der 15 Stunden - Wert liegt mit 0.08 % (± 0.01 %) etwas niedriger als der Ruhewert mit 0.09 %. In der 25. Stunde steigt der Wert deutlich auf 2.01 % (± 0.84 %) an , bleibt auch in der 35. Stunde mit 1.79% (± 0.31%) sehr hoch und sinkt in der 45. Stunde nur leicht auf 1.62 % (± 0.16 %) ab, was noch dem 18 - Fachen des Kontroll-

wertes entspricht.

Der Mitoseindex der Processus papillares beträgt somit in Ruhe 82 % des Wertes der Lobus dextrolaterales, in der 15. Stunde 73 %, in der 25. Stunde 111 %, in der 35. Stunde 97 % und in der 45. Stunde 116 % des Wertes der Lobus dextrolaterales.

Verhältnis des Markierungs- und Mitoseindex der Gruppe B im Vergleich zu Gruppe A: (Abbildung 1,2,5 und 6 Tabelle 1 - 4)

Der Kontrollwert des Markierungsindex der Lobus dextrolaterales von Gruppe B(siehe Tabelle 3 und Abbildung 5 und 6) beträgt 106 % des Kontrollwertes von Gruppe A, der 15 - Stundenwert 143 %, der 25 - Stundenwert 61%, der 35 - Stundenwert 121 %, der 45 - Stundenwert 145 % der Werte von Gruppe A. Die Verläufe der Markierungsindices der Gruppen A und B unterscheiden sich also deutlich, ebenso die Mitoseindices. Der Kontrollwert der Gruppe B ist dem der Gruppe A gleich, der 15 - Stundenwert beträgt dagegen 183 %, der 25 - Stundenwert 63 %, der 35 - Stundenwert 70 % und der 45 - Stundenwert 90% des Wertes der Gruppe A.

Auch bei den Processus papillares (siehe Tabelle 4 und Abbildung 7 und 8) zeigen die Markierungsindices sehr unterschiedliche Tendenz. Der Markierungsindex der Gruppe B beträgt in Ruhe 140 %,in der 15. Stunde 233 %, in der 25. Stunde 43 % in der 35. Stunde 147 % und in der 45. Stunde 160 % des Vergleichswertes der Gruppe A. Nicht so unterschiedlich verlaufen die Werte der Mitoseindices. Der Kontrollwert der Gruppe B beträgt 122 %, der 15 - Stundenwert 266 %, der 25 - Stundenwert 106 % der 35 - Stundenwert 88 % und der 45 - Stundenwert 92 %

des Vergleichswertes der Gruppe A.

Topik der markierten Hepatozyten:

Histologisch zeigte sich in der 25. Stunde der größte Teil der markierten Zellen im intermediären und peripheren Drittel des Leberlobulus, im zentralen Drittel dagegen waren nur sehr vereinzelte Markierungen zu finden. Eine ähnliche Topik findet sich zur 35. Stunde, allerdings scheint hier das zentrale Drittel völlig ausgespart zu sein. In der 45. Stunde sind vereinzelt Markierungen im zentralen Drittel, die Betonung liegt jedoch immer noch auf den intermediären und peripheren Dritteln.

3. Markierungs- und Mitoseindices und Topik der markierten Hepatozyten bei zweimaliger Teilresektion der Leber im Abstand von 28 Tagen und Gabe von Diäthylnitrosamin vier Stunden nach der ersten Teilresektion (Gruppe C):

In Gruppe C (siehe Tabelle 5 und Abbildung 3 und 5) findet sich bei den Lobus dextrolaterales als Markierungsindex ein 15 - Stundenwert von 0,06 %, dann ein steiler Anstieg der DNA - Synthese in der 25. Stunde auf 17.94 % ($\pm$ 1.84 %) markierter Hepatozyten, dann ein starker Abfall auf 9.08 % ($\pm$ 3.52 %) in der 35. Stunde, dann erneut ein Anstieg auf 11.27 % ($\pm$ 1.03 %) in der 45. Stunde, was dem 113 - fachen des Kontrollwertes entspricht.

Die Werte der Processus papillares (siehe Tabelle 6 und Abbildung 3 und 7) nehmen fast paralellen Verlauf, nur liegen sie geringfügig unter den Werten der Lobus dextrolaterales. In der 15. Stunde beträgt der Markierungsindex 0.03 %, steigt dann steil auf 16.35 %($\pm$ 1.44 %) in der 25. Stunde an, sinkt auf 8.28 % ($\pm$ 4.42 %) in der 35. Stun-

de ab und steigt nochmals auf 10.79 % (± 3.41%) in der 45. Stunde an. Somit erreicht der Markierungsindex der Processus papillares in der 15. Stunde 50% des Wertes der Lobus dextrolaterales, in der 25. Stunde 91 %, in der 35. Stunde 91 % und in der 45. Stunde 96 % des Wertes der Lobus dextrolaterales. Kontrollwerte liegen bei Gruppe C nicht vor, da keines der Tiere überlebte.

Der Mitoseindex der Lobus dextrolaterales (siehe Tabelle 5 und Abbildung 6) beträgt in der 15. Stunde 0.09 %, steigt in der 25. Stunde auf 1.65 % (± 0.65 %) an, bleibt in der 35. Stunde mit 1.63 (± 0.01%) etwa konstant und sinkt in der 45. Stunde auf 1.06 % (±0.03%) ab.

Der Mitoseindex der Processus papillares (siehe Tabelle 6 und Abbildung 8) beträgt in der 15. Stunde 0.09 %, steigt in der 25. Stunde auf 1.48 % (± 0.42%) an, in der 35. Stunde weiter auf 2.04 %(± 0.01%) und fällt dann in der 45. Stunde wieder auf 1.77 % (± 0.24 %)ab. Der Mitoseindex der Processus papillares ist somit in der 15. Stunde dem des Lobus dextrolateralis gleich, beträgt in der 25. Stunde 89 %, in der 35. Stunde 125 % und in der 45. Stunde 130 % des Wertes der Lobus dextrolaterales, verläuft also deutlich verschieden.

Verhältnis der Markierungs- und Mitoseindices der Gruppe C im Vergleich zu Gruppe B: (Tabelle 3 - 6, Abbildung 2,3,5 und 6):

Die Markierungsindices der Lobus dextrolaterales (Tabelle 5, Abbildung 5 und 6) zeigen im Vergleich mit denen der Gruppe B sehr deutlich Unterschiede. In der 15. Stunde beträgt die Zahl markierter Hepato-

zyten nur 38 % des Vergleichswertes der Gruppe B, in der 25. Stunde dagegen 142 %, sinkt dann in der 35. Stunde auf 63 % ab, und steigt in der 45. Stunde auf 88 % des Vergleichswertes der Gruppe B an. Der Mitose-index der Gruppe C verläuft dagegen dem der Gruppe B ähnlich. Der 15 - Stundenwert beträgt 82 %, der 25 - Stundenwert 91 %, der 35 - Stundenwert 88 % und der 45 - Stundenwert 97 % des Vergleichswertes der Gruppe B.

Auch die Markierungsindices der Processus papillares (siehe Tabelle 6 und Abbildung 7 und 8)zeigen im Vergleich zu denen der Gruppe B sehr deutliche Unterschiede. In der 15. Stunde erreicht die Zahl markierter Hepatozyten 43 %, in der 25. Stunde 217%, in der 35. Stunde 58 % und in der 45. Stunde 86 %des Vergleichswertes der Gruppe B. Der Mitoseindex dagegen zeigt ähnlicheren Verlauf. Er ereicht in der 15. Stunde 100 %, in der 25.Stunde 74 %, in der 35. Stunde 113 % und in der 45. Stunde 109 % des Vergleichswertes der Gruppe B.

Topik der markierten Hepatozyten :

Histologisch zeigt sich zur 25. Stunde das Leberparenchym direkt um die Zentralvene völlig ohne Markierung, während die markierten Hepatozyten auf das intermediäre und periphere Drittel etwa gleichmäßig stark verteilt sind. Nach 35 Stunden ist das zentrale Drittel etwas stärker markiert, die intermediären und peripheren Drittel dagegen völlig gleichmäßig. Nach 45 Stunden läßt sich kein deutlicher Unterschied in der Verteilung der TdR - H^3- markierten Hepatozyten in der Leber mehr feststellen.

4. Markierungs- und Mitoseindices und Topik der markierten Hepatozyten bei zweimaliger Teilresektion der Leber im Abstand von 28 Tagen und Gabe von Di-Äthylnitrosamin 24 Stunden nach der ersten Teilresektion : (Gruppe D)

Bei Gruppe D (Tabelle 7 und Abbildung 4 und 5) findet sich als Markierungsindex der Lobus dextrolaterales ein Kontrollwert, der mit 0.54 % drei bis fünfmal so hoch wie in den Gruppen A,B und C liegt, sowie ein 15 - Stundenwert, der mit 0.40 % drei bis sechsmal so hoch ist. Die DNA - Syntheserate steigt bis zur 25. Stunde steil an und erreicht 19.47 % (± 3.92%) markierte Zellen, und liegt damit um 9 % über dem Vergleichswert der Gruppe C und um 54 % über dem der Gruppe B. Es folgt ein weiterer geringer Anstieg auf 23.33 % in der 35. Stunde, was um 157 % über dem Wert der Gruppe C und um 63 % über dem Wert der Gruppe B liegt. Darauf erfolgt ein steiler Abfall der DNA - Syntheserate auf 9.94 % (± 1.53 %) in der 45. Stunde, die damit unter den Vergleichswerten der Gruppe B und C liegt. Der 45 - Stundenwert beträgt noch das 18 - fache des Kontrollwertes.

Auch die Processus papillares(siehe Tabelle 8 und Abbildung 7) zeigen einen wesentlich erhöhten Markierungsindex der Kontrolltiere von 0.47 %, was dem drei bis fünfzehnfachen der Kontrollwerte der Gruppen A,B und C entspricht . In der 15. Stunde sinkt auch hier die DNA - Syntheserate auf 0.27 % (± 0.07%) etwas ab und steigt in der 25. Stunde steil auf 12.46 % (± 1.87 %) an, in der 35. Stunde noch weiter auf 27.30 %, was die höchste Syntheserate des Versuches überhaupt darstellt, und sinkt in der 45.Stunde auf 8.57 % (± 1.43 %)ab, was noch dem 19 - fachen

des Kontrollwertes entspricht. Das Verhalten der Processus papillares unterscheidet sich somit deutlich von dem Verhalten der Lobus dextrolaterales.
In Ruhe beträgt der Markierungsindex der Processus papillares 87 % des Vergleichswertes der Lobus dextrolaterales, in der 15. Stunde 63 %, in der 25. Stunde 64 %, in der 35. Stunde dagegen 118 % und in der 45. Stunde nur mehr 86 %.
Der 35 - Stundenwert basiert allerdings auf der Auszählung nur eines Präparates, da es als einziges der Untergruppe zu verwerten war.

Die Anzahl der Mitosen der Lobus dextrolaterales (siehe Tabelle 7 und Abbildung 6) verhält sich ähnlich der der Gruppen B und C, doch übersteigen die Werte der Gruppe D in der 45. Stunde noch die der 35. Stunde. Der Kontrollwert von 0.11 % entspricht etwa den Werten der anderen Gruppen, ebenso der 15 - Stundenwert mit 0.14% ($\pm$ 0.02 %), der 25 - Stundenwert liegt bei 1.71 %($\pm$ 0.31%), der 35 - Stundenwert mit 1.57 % dagegen etwas niedriger, während der 45 - Stundenwert mit 1.85 % ($\pm$ 0.12 %) wieder etwas höher liegt und somit das 17 - Fache des Kontrollwertes beträgt.

Der Mitoseindex der Processus papillares (siehe Tabelle 8 und Abbildung 8) erreicht ebenfalls seinen höchsten Wert in der 45. Stunde, der 35 - Stundenwert liegt unter dem der Lobus dextrolaterales. Der Kontrollwert erreicht mit 0.20 % etwa das Doppelte der Werte der anderen Gruppen, ebenso der 15 - Stundenwert mit 0.17% ($\pm$ 0.04 %). Der Anstieg des 25 - Stundenwertes auf 1.44 % ($\pm$ 0.30%) verläuft nicht so steil wie in den anderen Gruppen. Ebenso ungewöhnlich im Vergleich zu den an-

deren Gruppen ist der Abfall des 35 - Stundenwertes auf 1.30 % und der weitere Anstieg auf 1.82 % (± 0.42 %) in der 45. Stunde. Der Mitoseindex der Processus papillares beträgt nun in Ruhe 182 % des Mitoseindex der Lobus destrolaterales, in der 15. Stunde 121 %, in der 25. Stunde 84 %, in der 35. Stunde 83 % und in der 45. Stunde 98 % des Vergleichswertes der Lobus dextrolaterales.

Verhältnis der Markierungs- und Mitoseindices der Gruppe D im Vergleich zur Gruppe C: (Abbildung 5 - 8, Tabelle 5 - 8)

Der Markierungsindex der Lobus dextrolaterales der Gruppe D unterscheidet sich sehr deutlich von dem der Gruppe C. Er beträgt in der 15. Stunde 666 % des Wertes der Gruppe C, in der 25. Stunde 109 %, in der 35. Stunde 257 % und in der 45. Stunde 88 % des Vergleichswertes. Weniger deutlich ist der Unterschied der Mitoseindices : er beträgt in der 15. Stunde 155 %, in der 25. Stunde 104 %, in der 35. Stunde 96 % und in der 45. Stunde 136 % des Vergleichswertes der Gruppe C.

Auch bei den Processus papillares unterscheidet sich der Syntheseverlauf der Gruppe D sehr deutlich von dem der Gruppe C. Der 15 - Stundenwert beträgt 900 %, der 25 - Stundenwert 76 %, der 35 - Stundenwert 329 % und der 45 - Stundenwert 79 % der Vergleichswerte der Gruppe C.

Weniger ausgeprägt ist wieder der Unterschied des Mitoseindex. Nach 15 Stunden beträgt er 188 %, nach 25 Stunden 96 %, nach 35 Stunden nur mehr 63 % und nach 45 Stunden 103 % des Vergleichswertes der Gruppe C.

Topik der markierten Hepatozyten:

Histologisch zeigt sich nach der 25. Stunde nach Teilhepatektomie eine ziemlich gleichmäßig über das Läppchen verteilte Markierung mit Betonung des intermediären

Läppchendrittels und völliger Aussparung des direkt um die Zentralvene gelegenen Gebietes. Ähnlich verhält es sich 35 Stunden nach Teilhepatektomie, jedoch ist das zentrale Drittel etwas stärker markiert als in der 25. Stunde. In der 45. Stunde finden sich zentral nahezu keine Proliferationen, das intermediäre Drittel ist sehr stark markiert, während das periphere Drittel nur noch sehr wenige Markierungen aufweist.

Erschwerend für die Auswertung der Befunde in Gruppe D ist allerdings die Tatsache, daß von der Untergruppe D III nur ein Tier überlebte.

5. Weitere ergänzende Einzelergebnisse:

Bei der ersten Teilhepatektomie ergaben sich durch offensichtlich ungünstige Lage der Ligierung Nekrosen verschiedener Größe in den Lobus dextrolaterales einiger Tiere. Bei diesen Tieren bliebennur die Processus papillares zur Auszählung übrig, welche gegenüber den Mittelwerten der Processus papillares der gleichen Gruppe ein unterschiedliches DNA - Synthesemuster offensichtlich in Abhängigkeit vom Umfang der Nekrosen der Lobus dextrolaterales zeigten.(siehe Tabelle 9)
Bei geringer Nekrose von etwa 20 bis 50 % der Lobus dextrolaterales eines Schnittes findet sich eine nur geringe Proliferationserhöhung gegenüber den Vergleichswerten der Tiere ohne Nekrosen bis etwa 153 % der Mittelwerte der Processus papilares der gleichen Untergruppen ohne Nekrosen. Bei stärkerer Nekrose zwischen 50% und 85 % des Lobus dextrolateralis eines Schnittes kann eine starke Erhöhung der Proliferation auf 203 - 333 % der Mittelwerte der Processus papillares der gleichen Untergruppe ohne Nekrose festgestellt werden. Bei völliger

Nekrose von 1oo% des Lobus dextrolateralis resultiert eine sehr starke Verminderung der markierten Hepatozyten bis auf 33% des Vergleichswertes der gleichen Untergruppe ohne Nekrose.Allerdings blieben nur neun Präparate zur Auswertung, womit eine statistische Sicherung nicht möglich ist,die Tendenz sich aber feststellen läßt.Bei der restlichen Präparaten war die Anzahl der markierten Zellen zu gering (unter 14/7ooo), als daß eine Errechnung der Relation zu den Werten der entsprechenden Untergruppen ohne Nekrose sinnvoll gewesen wäre (siehe Tabelle 9).

IV) Diskussion der Ergebnisse

Die Markierungs- und Mitoseindices der Rattenhepatozyten zeigen je nach Behandlung der Versuchstiere unterschiedliche Verläufe.Die einzige Gemeinsamkeit aller vier Gruppen besteht lediglich in einem Ansteigen des Markierungs- und Mitoseindex zwischen 15. und 25. Stunde nach Teilhepatektomie.Die weiteren Verläufe sollen nun im Einzelnen für jede Gruppe getrennt diskutiert und mit den Werten der anderen Gruppen verglichen werden.

Gruppe A : (einmalige Teilresektion, keine Daena-Applikation).

Von der Operation ab bis zur 15. postoperativen Stunde finden sich in den Lobus dextrolaterales wie in den Processus papillares nur wenige DNA- synthetisierende Zellen.Dies läßt sich wohl darauf zurückführen,daß in diesem Zeitraum das Restparenchym verstärkt Stoffwechselaufgaben wahrzunehmen hat (Literatur bei Bucher 1963), wohl auf Grund des Ausfalles eines Großteils von Parenchym.Die Folgen zeigen sich zum Beispiel im Abfall der Plasmaproteine ab der 6. Stunde nach Operation(Bucher 1963). Um die 16. - 18. Stunde beginnt eine umfangreiche DNA - Synthese des erhaltenen Parenxhyms (Bucher 1963). Ein Maximum der DNA - Synthese zeigt sich nach Grisham (1962) um die 2o. Stunde , nach Bucher (1963) um die 24. Stunde. Auch andere Autoren (Cater et al, 1956, Oehlert et al. 1962, Fabrikant 1968) geben das Maximum um die 24. Stunde an.In unserem Versuch ergibt sich nach

TdR-H^3-Gabe die stärkste DNA - Synthese des Restparenchyms in der 25.Stunde.Nach der 25. Stunde zeigt sich ein deutlicher Abfall der DNA - Synthese - Aktivität , woraus ein deutlicher " Peak " zur 25. Stunde resultiert in Übereinstimmung mit den Befunden von Grisham (1962) und Bucher (1963).Der 35 - Stundenwert entspricht etwa der Hälfte des 25 -Stundenwertes bei beiden Lappen (Bucher 1963). Danach ist der Abfall der Syntheseaktivität etwas geringer und es ergeben sich nach 45 Stunden Markierungsindices,die in Übereinstimmung mit Bucher (1963) etwa 75% des Wertes der 35. Stunde nach Teilhepatektomie entsprechen.Legt man für die Dauer der S - Phase nach Teilhepatektomie den Zeitraum von 7,2 Stunden (Stöcker 1967) zugrunde,so ergäbe sich theoretisch aus dem "Peak" um die 25. Stunde,daß der größte Teil der Hepatozyten des Restparenchyms auch bei unserer Versuchsanordnung zwischen 18. und 25. Stunde in die S - Phase eintreten müßte (Rabes 1969,Bucher 1963).Diese Überlegung ist jedoch praktisch nicht zu verwerten,da bei dem in unserer Versuchsanordnung bestehenden Intervall von 10 Stunden der tatsächliche " Peak " auch früher oder später liegen kann und durch die großen Intervalle nicht erfasstwerden konnte.Da der Versuch bereits um die 45. Stunde beendet wurde,findet sich die bei anderen Autoren (Oehlert et al. 1962,Bucher 1963,Cater et al. 1956, Rabes und Tuczek 1970) angegebene zweite teilsynchronisierte DNA - Synthesewelle zwischen 5o. und 8o. Stunde nicht mehr.
Die Verteilung der markierten Hepatozyten im histologischen Bild ist sehr ähnlich der bei anderen Autoren unter vergleichbaren Versuchsbedingungen gefundenen.

Sie liegen bei der Kontrollgruppe und nach 15 Stunden diffus über das Leberparenchym verteilt, während sich nach 25 Stunden die größte Markierungsdichte in der Peripherie der Lobuli findet, wie es auch von Bucher (1963),Grisham(1962) und Rabes und Tuczek(1970) beschrieben wird. Jedoch wurden hier die Zeitpunkte der 20.,24. und 28. Stunde nach Teilresektion ausgewertet. In der 35. Stunde liegt das Maximum markierter Hepatozyten im zentralen Drittel. Nach 45 Stunden sind die TdR - H^3-markierten Hepatozyten(wie auch bei Rabes und Tuczek 1970, Fabrikant 1968, und Grisham 1962,) gleichmäßig über das Läppchen verteilt. Damit ergibt sich eine gewisse Ähnlichkeit der vorliegenden Befunde zur Topik der DNA-synthetisierenden Hepatozyten(die allerdings nur qualitative Ergebnisse darstellen) mit den quantitativen Ergebnissen von Bucher,Grisham und Rabes.
Die Zahl der Mitosen erreicht ebenfalls in der 25.Stunde ein deutliches Maximum,woraus sich auf eine beträchtliche Zahl DNA-synthetisierender Hepatozyten kurz nach der 15.-16.Stunde schließen läßt,wenn man die Dauer der S-Phase mit 7,2 Stunden undder G_2-Phase mit 2-4 Stunden annimmt.Der Beginn der DNA-Synthese-Welle läßt sich also recht genau auf die 15.-16.Stunde nach Teilhepatektomie festlegen.Dieser Zeitpunkt wird auch von Bucher(1963) angegeben.
Das Verhältnis TdR-H^3-markierter Hepatozyten des lobus dextrolateralis zur Anzahl der Mitosen des gleichen Leberteiles 25 Stunden nach Teilhepatektomie beträgt 7,2:1, in der 35.Stunde 4,7:1,in der 45.Stunde 5,6:1,was nahezu mit den Angaben von Grisham 1962,(6:1-8:1) übereinstimmt. Es muß jedoch darauf hingewiesen werden,daß bei einer

durchschnittlichen Mitosedauer von 1-1,5 Stunden (Stöcker 1967) möglicherweise vorhandene Mitosemaxima zwischen den einzelnen Untergruppen,die im Abstand von 1o Stunden untersucht wurden,nicht erfaßt werden können. Dadurch lassen sich die Werte für die Anzahl der Mitosen nur mit Vorbehalt mit den Werten der TdR-H^3-markierten Hepatozyten korrelieren.So verläuft auch die Kurve der gefundenen Mitosewerte nach Teilhepatektomie sehr unterschiedlich zu der von Grisham (1962) gefundenen,da sich diese Kurve aus "erten im Abstand von jeweils drei Stunden zwischen Teilhepatektomie und Ende des Versuches zusammensetzt.Grisham berechnet aus seinen Ergebnissen für die Dauer der S-Phase eine Länge von 6-9 Stunden, wenn eine Mitosedauer von 1-1,5 Stunden zugrunde gelegt wird.Diese Werte errechnen sich aus dem Verhältnis der Zahl der DNA-synthetisierenden Hepatozyten zu einem bestimmten Zeitpunkt im Verhältnis zum Mitoseindex der Hepatozyten zum gleichen Zeitpunkt,multipliziert mit der Dauer der Mitose in Stunden:

$$\frac{\text{Markierungsindex}}{\text{Mitoseindex}} \times \text{Dauer der Mitose in Stunden.}$$

Beispiel: Unser 25-Stunden-Wert der Gruppe A (lob.dextr.):
2o.74,3 : 2.86,7 =7,2 : 1,multipliziert mit 1,o bzw.1.5 Stunden ergibt 7,2-1o,8 Stunden.
Nach unseren Werten würde die S-Phase dann einen Zeitraum zwischen 5 und 11 Stunden beanspruchen,was weder eine merkliche Verlängerung noch Verkürzung bedeutet.

G r u p p e B : (zweimalige Teilhepatektomie im Abstand von vier Wochen,keine Daena-Applikation).

Nach der ersten Teilhepatektomie regeneriert das verbliebene Drittel des Rattenleberparenchyms innerhalb von 1o-15 Tagen (Bucher.1963) bis zu der vor der Operation vorhandenen Menge von etwa 8g.Nach Simpson und Finckh (1963) werden 97% des ursprünglichen Gewichtes erreicht. Vier Wochen nach der ersten Operation zeigt das Leberparenchym nach Injektion von H^3-Thymidin nahezu die gleichen Werte (Kontrollgruppe O) wie die Kontrollgruppe A_0, bei der keine Teilhepatektomie vorgenommen wurde.Auch nach der zweiten Operation sinkt wie bei Gruppe A (einmalige Teilresektion) die Zahl der markierten Hepatozyten zur 15.Stunde geringfügig ab.Der in Gruppe A zu beobachtende steile Anstieg der Zahl DNA-synthetisierender Hepatozyten bis zur 25.Stunde läßt sich jedoch nach der zweiten Teilhepatektomie nicht mehr feststellen.Es findet sich ein relativ langsamerer Anstieg auf nur etwa 61%(lob.dextr.) bzw.43% (proc.pap.) der Vergleichswerte von GruppeAmit einmaliger Teilresektion.Dieser verzögerte Anstieg und das daraus resultierende "Plateau" könnte dadurch bedingt sei,daß bei der hier vorgenommenen Resektion von 43% des Leberparenchyms die DNA-Synthese in den Hepatozyten möglicherweise weniger synchronisiert und,wie bei einer Resektion von 3o% des Parenchyms festgestellt wurde, in der Form eines flachen Plateaus abläuft (Bucher und Swaffield.1964).
In der 35.Stunde sind es nach zweimaliger Teilresektion hingegen im lobus dextrolateralis um 21% mehr markierte Hepatozyten als bei einmaliger Teilresektion,im processus

papillaris sogar um 47% mehr. Es sind dies also offensichtlich die Hepatozyten, die nach längerer G_1-Periode erst später in die S-Phase eintreten.

Auch in der 45.Stunde liegen die Werte der markierten Hepatozyten noch wesentlich über den Werten der Versuchsgruppe mit einmaliger Teilhepatektomie. Während sich bei dieser Gruppe eine starke synchrone DNA-Synthese-Welle von der 16.-18.Stunde mit einem "Peak" in der 25.Stunde zeigt, findet sich nach der zweiten Teilhepatektomie eine geringere Anzahl DNA-synthetisierender Hepatozyten zum gleichen Zeitpunkt, jedoch verläuft die Regeneration mit nahezu gleicher Intensität über einen längeren Zeitraum, wie sich an dem Plateau der TdR-H^3-markierten Hepatozyten von der 25.Stunde an bis zur 45.Stunde erkennen läßt. Aus dem flachen Kurvenverlauf zwischen 25.und 45.Stunde und dem hohen 45-Stunden Wert läßt sich vermuten, daß das Parenchym auch nach der 45.Stunde noch eine stärkere DNA-Synthese aufweist, die jedoch mit unserer Versuchsanordnung nicht mehr erfaßt wird. Nimmt man die Summe aus den TdR-H^3-Markierungsindices der Hepatozyten nach 25, 35 und 45 Stunden zusammen in der Gruppe A bzw. B, so ergibt sich, daß sich während dieses Zeitraumes bei beiden Gruppen nahezu die gleich Anzahl von Hepatozyten in der DNA-Synthesephase befindet, nämlich 41.3% bei Gruppe A und 39.8% bei Gruppe B. Die zweite Teilresektion führt also, gemessen an der Zahl DNA-synthetisierender Hepatozyten, zu nahezu gleichstarker Proliferation, jedoch mit zeitlicher Verschiebung. Voraussetzung für diese Folgerung ist, daß nach der zweiten Teilhepatektomie die Dauer der S-Phase, der G_2-Phase und der Mitose gegenüber der ersten

Teilhepatektomie nicht verändert ist.
Noch langsamer als bei den lobus dextrolaterales nach einmaliger Teilresektion verläuft der Anstieg der DNA-Synthese bei den processus papillares.Der 25 Stunden nahh Teiresektion gefundene Wert beträgt nur 59% des Wertes der lob. dextr. und liegt damit deutlich niedriger,der nach 35 Stunden gefundene Wert des Markierungsindex der lob.dextr. und ist somit nur unwesentlich vermindert,ebenso der 45 Stunden nach Teilresektion gefundene Wert mit 97 % des Vergleichswertes der lob dextr..Um die Ursache dieser Differenzen zwischen den einzelnen Lappen einer Rattenleber zu erklären,bedarf es weiterer Untersuchungen.Diese Unterschiede könnten vielleicht mit zirkulatorischen oder anderen lagebedingten Faktoren sowie auf Grund verschiedener enzymatischer Aktivitäten und funktioneller und struktureller Eigenheiten der Leberzelle zurückzuführen sein.
Der Anstieg und Abfall der Mitosewerte nehmen einen ganz ähnlichen Verlauf wie bei den markierten Hepatozyten.
Der minimalen Mitoseaktivität in der 15.Stunde nahc Teilhepatektomie folgt ein stärkerer Anstieg in der25.Stunde, höhere Werte in der 35.Stunde und niedrigere Werte in der 45.Stunde.Insgesamt liegen die Mitosewerte nach zweimaliger Teilresektion deutlich unter denen der Gruppe A mit einmaliger Teilresektion,doch läßt sich wieder wie bei den markierten Hepatozyten aus dem flachen Verlauf der Kurve zwischen 25. und 45. Stunde eine weitere erheblich Mitoseaktivität nach der 45.Stunde erwarten.Das Verhältnis markierter Hepatozyten zur Anzahl der Mitosen beträgt bei den lobus dextrolaterales 7 : 1 bis 9 : 1,ist also gegenüber der Gruppe A mit einmaliger Teilresektion erhöht.

Daraus könnte entweder auf eine Verlängerung der S-Phase nach der zweiten Teilresektion gegenüber der ersten oder auf eine Verkürzung der Mitosedauer geschlossen werden (Grisham,1962).

Bei den processus papillares beträgt das Verhältnis 3.75 : 1 bis 8 : 1.Aufgrund dieser großen Streubreite und der wenigen Zeitpunkte der Auswertung der Mitosezahlen (nur drei verwertbare Punkte im Abstand von 1o Stunden) läßt sich jedoch keine sichere Behauptung über eine evtl. Verlängerung oder Verkürzung der DNA-Synthesezeit aufstellen. Das Verhältnis liegt jedenfalls im Mittelwert in dem von Grisham (1962) angegebenen Bereich.von 6:1 bis 8:1, was mit einer DNA-Synthesedauer von etwa 7,2 Stunden und einer Mitosedauer von 1-1,5 Stunden(Stöcker,1967) übereinstimmt.

Die Verteilung der markierten Hepatozyten im histologischen Bild nach zweimaliger Teilresektion unterscheidet sich von der Verteilung nach einmaliger Teilresektion (Grisham.1962,Bucher 1963,Rabes,1970).Während nach einmaliger Teilhepatektomie in der 25.Stunde die stärkste Markierung in der Läppchenperipherie zu finden ist,zeigt sich nach zweimaliger Teilhepatektomie das Markierungsmaximum im intermediären und peripheren Drittel des Leberläppchens. Nach 35 Stunden liegt bei einmaliger Teilresektion das Maximum der markierten Hepatozyten im zentralen Drittel, bei zweimaliger Teilresektion scheint dieses völlig ausgespart,während das intermediäre und periphere Drittel gleichmäßig verteilte Markierungen aufweist.In der 45. Stunde finden sich bei einmaliger Teilresektion in allen Teilen gleichmäßig markierte Hepatozyten,während nach zweimaliger Teilresektion wieder der intermediäre und periphere Läppchenanteil überwiegt.Die Lokalisation der

regenerierenden Hepatozytenim Lobulus ist also gegenüber der einmaligen Hepatektomie leicht verändert,jedoch ist die Bevorzugung der Peripherie gegenüber dem Läppchenzentrum,die auf verschiedene zirkulatorisch bedingte Milieufaktoren und strukturelle Eigenheiten der Leberzellen zurückzuführen sind(Tuczek,1971),erhalten geblieben. Über die Mechanismen des Ersatzes des entfernten Lebergewebes auf der Ebene der Lobuli wurden bei unserem Versuch keine Untersuchungen angestellt.Nach Simpson und Finckh (1963) wird das ursprüngliche Lebergewicht nach der zweiten Teilhepatektomie durch Erhöhung der Läppchenzahl wie auch durch gewisse Vergrößerung der Einzellobuli erreicht.

Ein Zufalls befund in unserer Versuchsreihe ergab sich dadurch,daß bei der zweiten Teilresektion durch die Ligaturen bei einer Reihe von Tieren mehr oder weniger umfangreiche Nekrosen der lobus dextrolaterales auftraten. Die bei diesen Tieren gefundenen Markierungswerte der processus papillares ergaben einen unterschiedlichen Prozentsatz markierter Hepatozyten im Vergleich zu den Mittelwerten der Markierung der proc.pap. der gleichen Gruppe bzw. Untergruppe ohne Nekrosen.Die Ergebnisse lassen sich mit anderen Ergebnissen über das Verhältnis zwischen Nekrose bzw. Entfernung von Leberlappen und Regeneration vergleichen (Bucher,1963, Tuczek und Rabes, 1971),doch nicht in ihren absoluten Werten,da wir jeden Wert unter anderen Bedingungen gewonnen haben.und der prozentuale Anteil des nekrotischen Gewebes sich nur auf die Gesamtmenge des lobus dextrolateralis bezieht,nicht aber wie bei anderen Autoren(Bucher,1963,Tuczek und Rabes, 1971,Simpson und Finckh,1963) auf die gesamte Lebersubstanz. Doch zeigt sich deutlich die Reservekapazität der Leber.

Nekrosen bis 35% des lobus dextrolateralis werden ohne erhöhte Proliferation überwunden.Das Maximum der Regeneration tritt auf bei einer Nekrose von 60 - 80 % des lobus dextrolateralis.Bei 100 % Nekrose des lob.dextr. ist das Restparenchym so minimal,daß es für Stoffwechselaufgaben zur Verfügung zu stehen hat (Bucher 1963) und keine regenerativen Vorgänge leisten kann,die Proliferation also sogar unter den Mittelwert der anderen Tiere ohne nekrotischen lobus dextrolateralis absinkt.

G r u p p e C: (Vier Stunden nach erster Teilhepatektomie Applikation von Diäthylnitrosamin (Daena), vier Wochen später zweite Teilhepatektomie).

Zur Biochemie des Daena:

Nach Injektion wird Daena wie alle Dialkylnitrosamine in der Leber und anderen Organen metabolisiert (Schoenthal 1960,Heath 1962,Magee und Farber 1962,Magee und Hultin 1962, Druckrey 1967,Magee und Barnes 1967),doch ist die Leber wohl der Ort des hauptsächlichen Abbaus.Druckrey (1967) vermutet den ersten Schritt des Katabolismus in einer enzymatischen Alpha-Hydroxylierung durch organspezifische Hydroxylasen,sogenannte Arzneimittel-abbauende Enzyme, welche Magee und Barnes (1967) in den Mikrosomen- und Zellsaftfraktionen besonders der Leber und der Lunge lokalisieren konnten.Von den Alpha-Hydroxyalkylnitrosaminen führt der Abbau über eine Heterolyse zum Monoalkylnitrosamin,einem nicht toxischen,nur Sekundenbruchteile stabilen Zwischenprodukt (Magee und Barnes 1967) und zum Diazoalkan, der wahrscheinlich aktiven Wirksubstanz,welche in der Zelle zu einer Alkylierung des Guanins der Nukleinsäuren

führen kann(Druckrey,1967).So läßt sich nach der Applikation von Daena (mittlere letale Dosis= 21o mg/kg ,Schmähl,et al. 196o)in kurzer Zeit 7-Äthylguanin in der DNA sowie der m-RNA nachweisen.Das Maximum der Alkylierungswirkung ist zwischen der 5. und 12.Stunde nach Applikation festzustellen(Magee und Barnes,1967). Die Folge der Alkylierung genetischer Substanzen durch Daena kann zweierlei sein:

1.Die Menge genetischen Materials bleibt gleich,aber die Basensequenz wird geändert durch Substitution einer oder mehrerer Basen durch andere,wenn sich das 7-Äthylguanin mit Thymidin statt mit Cytosin paart. Die Folge ist, daß bei der nächsten Zellteilung das Guanin-Cytosin-Paar durch ein Thymin-Adenin-Paar ersetzt wird(Magee und Barnes,1967).

2. Ein Basenpaar geht verloren,da 7-Äthylguanin durch Depurination mit Hilfe spezifischer Desoxyribonukleinasen chemisch vom Makromolekül der Nukleinsäure getrennt wird. Die Folge ist ein Fehlen des Basenpaares für die nachkommenden Zellen.Der Schaden ist dabei aber nicht so groß,daß er die Tochterzelle inaktivieren könnte.(Magee und Barnes,1967).

Tritt der erstgenannte Fall ein,so besitzt jede Zelle noch die Möglichkeit der Reparation des Schadens(Harbers, 1969,Haynes et al..1966).Folgender Mechanismus wäre dabei denkbar:Die Veränderung an der DNA wird von einem bestimmten hypothetischen Enzym erkannt.Dies bewirkt ein Aufbrechen der Phosphordiesterbrücken an beiden Seiten des veränderten Purinmoleküls und ein Herausnehmen des Moleküls.Darauf folgt eine Neubildung des fehlenden DNA-Stückes mit Hilfe des als Matritze wirkenden komplementären DNA-Stranges. Allerdings scheint die Möglichkeit einer derartigen

Reparation beschränkt,denn bei hohen Dosen des schädigenden Agens ist eine Reparation nicht in jedem Falle mehr möglich(Harbers,1966,Haynes et al.,1966).

Kann nun diese Reparation nicht mehr stattfinden,so wirkt sich die Gabe von Daena in beiden Fällen so aus,daß es genetische und daraus resultierende Enzym-Proteinschäden setzt,ohne dabei aber in der Regel die Proliferationsfähigkeit der Zellen zu hemmen.Die alkylierende Wirkung des Diazoalkans könnte theoretisch die DNA und m-RNA in allen Stadien des Zellzyclus in gleicher Weise treffen.Wie die verschiedenen Verläufe der Kurven der TdR-H^3-Markierungsindices der Gruppen B,C und D zeigen(Ergebnisteil und Abb.2,3,4 und 7),ist der Zeitpunkt der Applikation, d.h. das Stadium der Regeneration der Parenchymzellen jedoch entscheidend für das Ausmaß der Daena-Wirkung.

Es könnte daraus gefolgert werden,daß Daena zwar die Nucleinsäuren aller Hepatozyten schädigt,die Zellen in bestimmten Abschnitten der Teilungsphase aber in größerem Umfang betroffen sind.Die DNA-Synthese-Phase könnte dabei eine besondere Sensibilität besitzen,während bei Zellen in anderen Zyclusphasen möglicherweise die m-RNA stärker betroffen ist.Eine besondere Sensibilität der DNA während der Synthesephase könnte auf der Demaskierung der DNA während der Reduplikation beruhen,während sie im Interphasenkern als DNA-Protein-Komplex (Nucleohiston) vorliegt (Harbers,1961,1969).

Ein weiterer Gesichtspunkt der Daena-Wirkung wäre noch zu überlegen:Auch die Proteinfraktion des Nucleohistons enthält eine bestimmte Menge RNA (Harbers,1966 b).Es scheint der Fall zu sein,daß auch diese RNA-Fraktion und damit das Nucleohiston in seinem chemischen Aufbau

von Daena verändert wird (Harbers,1969).Da aber die Zusammensetzung der Histone und ihre Wechselwirkung zu RNA noch nicht eindeutig gesichert scheint (Harbers,1969, De Rueck,1966),lassen sich auch keine weiteren Aussagen über eine mögliche Daena-Wirkung auf die Funktion der Histone machen.Nach Harbers (1969) scheint jedoch gesichert, daß eine Alkylierung der Histon-Nucleinsäuren zu einer Steigerung der Matritzeneigenschaft der Kern-DNA und damit zu erhöhter Stoffwechsel-und Mitoseaktivität führt.

In neuerer Zeit wird auch von verschiedenen Autoren (Sander,1969,Ivancovic und Preussmann,197o,Lijinsky und Epstein,197o,u.a.)auf die Möglichkeit der endogenen Entstehung von alkylierenden Substanzen aus Nitriten und sekundären Aminen hingewiesen.Jedoch soll auf diese Überlegung in diesem Zusammenhang nur hingewiesen werden, jedoch nicht näher eingegangen werden,da sie bei unserem Versuch keine Rolle spielt.

Bei unserem Versuch zeigt es sich,daß 15 Stunden nach der zweiten Teilhepatektomie wie bei allen anderen Gruppen auch in Gruppe C die Proliferation noch minimal ist.Ein Kontrollwert liegt nicht vor,da kein Tier der Kontrollgruppe überlebte.Die 25-Stunden-Werte der TdR-H^3-markierten Hepatozyten liegen deutlich über den Werten der Gruppe B, bei der nach der ersten Teilhepatektomie kein Daena appliziert wurde.Die Erhöhung beträgt 42% bei den lobus dextrolaterales und 117% bei den processus papillares.Bei den 35-Stunden-Werten hingegen ist die Relation zwischen den Gruppen B und C gerade umgekehrt: Die Werte der markierten Hepatozyten der Gruppe C liegen deutlich unter den Werten der Gruppe B und zwar um 37% bzw. 42%.Die 45-Stunden-Werte

stimmen nun annähernd wieder überein,sie sind nur um 12% bzw. um 14% gegenüber der Gruppe B erniedrigt.
Die Applikation von Daena bewirkt also eine weitaus höhere Proliferation zu Beginn der Regeneration (25-Stunden-Wert), danach eine verminderte (35-Stunden-Wert) und einen ähnlich hohen 45-Stunden-Wert wie in Gruppe B. Daena wurde bei dieser Gruppe vier Stunden nach der ersten Teilhepatektomie appliziert.Nach Magee und Barnes (1967)erreicht es seine maximale Wirkung 5-12 Stunden später,was der 12. bis 16.Stunde nach erster Teilhepatektomie entspricht. Voraussetzung ist aber ein normaler Metabolismus der Leber, der in unserem Falle nach der Teilhepatektomie aber wohl nicht vorliegt.Die Stoffwechselleistung der reduzierten Leber nach Teilresktion sinkt nach der 6.Stunde merklich ab (Bucher,1963).So könnte auch der Katabolismus des Daena zum toxischen,cancerogenen Endprodukt verzögert sein,d.h. seine Wirkung dürfte auch noch nach der16.Stunde nach Teilhepatektomie vorhanden sein.Dies ist der Zeitpunkt, zu dem gerade der steile Anstieg der DNA-synthetisierenden Hepatozyten stattfindet (ab 18.Stunde nach Bucher,1963, 12.-18.Stunde nach Grisham,1962,).In unserem Versuch beginnt die Proliferation nach einmaliger Teilhepatektomie (siehe Untergruppe A_I und A_{II}) nach der 15.Stunde,d.h. die Applikation von Daena vier Stunden nach der Teilhepatektomie trifft in ihrer toxischen Wirkung nur noch den kleinen Teil von Hepatozyten,der kurz nach der 15.Stunde in die DNA-Synthese-Phase tritt.Da in dem Zeitraum 9-15 Stunden nach Teilresektion keine DNA-Synthese stattfindet, jedoch eine starke RNA-Synthese (Rabes und Brändle,1969), kann man folgern,daß die Daena-Wirkung in Gruppe C vorwiegend die RNA trifft.In den ersten zwei Stunden nach Teil-Hepatektomie zeigen die Zellen einen Anstieg der RNA-

Syntheseaktivität.Zum Zeitpunkt der maximalen Wirkung des Daena etwa zwischen 9. und 18.Stunde ist die RNA-Synthese um etwa das 1,6-2,3-fache gegenüber den Kontrollwerten gestiegen(Rabes und Brändle,1969).Als wirksame Mechanismen bei der Zellregeneration der Gruppe C (zweimalige Teilresektion,Daena-Gabe vier Stunden nach erster Teilresektion) gegenüber Gruppe B (zweimalige Teilresektion,keine Daena-Gabe) läßt sich folgendes diskutieren:
Die Veränderungen an den Nucleinsäuren könnten die Dauer einzelner Phasen des Zellzyclus verändern.Der erhöhte Markierungsindex 25 Stunden nach Teilhepatektomie könnte durch eine Verlängerung der S-Phase bedingt sein.Bei einer normalen Dauer der S-Phase von 7,2 Stunden (Stöcker,1967) sind in unserem Markierungsindex 25 Stunden nach Teilresktion der Gruppe B die Hepatozyten nicht enthalten,die zwischen 15 und 17,8 Stunden nach Teilresektion in die S-Phase eintreten,sie in der 25.Stunde also schon wieder verlassen haben.Würde die Gabe von Daena die S-Phase verlängern,so wären in Gruppe C diese Zellen in der 25.Stunde nach Teilresektion noch in der DNA-Synthese-Phase und damit markiert.Die Differenz der 25-Stunden-Werte markierter Hepatozyten von Gruppe C und B (42% bei den lob.dextr.) entspräche dann der Anzahl von Zellen der Gruppe B,die zwischen 15. und 17,8.Stunde in die S-Phase treten.Dagegen spricht aber ganz deutlich der starke Abfall der Markierung in der 35.Stunde unter den 35-Stunden-Wert der Gruppe B (auf 63% des Wertes der Gruppe B).Wäre die S-Phase durch Daena verlängert,müßte der Markierungsindex in der 35. und 45.Stunde bei Gruppe C also weiter über den Werten der Gruppe B liegen.Daraus ist zu folgern,daß die Erhöhung des Markierungsindex 25 Stunden nach Teilresektion bzw.

die Erniedrigung des Markierungsindex 35 Stunden nach Teilresektion gegenüber der Gruppe B (ohne Daena) nur als eine absolut höhere bzw.niedrigere Anzahl DNA-synthetisierender Zellen angesehen werden kann.Als Daena-Wirkung ergibt sich somit ein schnelleres Einsetzen der Regeneration und ein deutliches Absinken nach der 25.Stunde gegenüber einer nahezu gleichmäßigen DNA-Synthese zwischen der 25. und 45.Stunde in der Gruppe B.Offensichtlich führen die durch Daena gesetzten Enzymschäden zu einer kürzeren Latenzzeit vom Zeitpunkt der Schädigung an bis zum Eintritt der Zellen in die S-Phase.Diese Beobachtung machten bereits Simard und Cousineau(1968).Sie führten die Tatsache,daß in präneoplastischen Geweben mehr Zellen in die S-Phase treten,darauf zurück,daß bei solchen vorgeschädigten Zellen der G_1-Block schwächer sei,die Zellen also schneller in die S-Phase treten könnten.Auf unsere Versuche übertragen würde sich entsprechend gegenüber Gruppe B ein verstärkter Synchronisationseffekt zeigen,der sich tatsächlich in dem Peak des Markierungsindex 25 Stunden nach Teilhepatektomie manifestiert.In diesem Wert ist also die Zahl DNA-synthetisierender Zellen enthalten,die auch in Gruppe B zum gleichen Zeitpunkt sich in der S-Phase befinden,und zusätzlich ein weiterer Anteil DNA-synthetisierender Zellen (42% der lob.dextr.),der sich in Gruppe B erst um die 35. Stunde in der S-Phase befinden würde.Der 35-Stunden-Wert der Gruppe C ist dann gegenüber der Gruppe B um diesen Wert erniedrigt (47% bei den lob.dextr.).Eine der möglichen von Magee und Barnes (1967) sowie Farber (1966) diskutierten Schädigungen der RNA oder der Enzymproteine durch Daena führt also zu einer Verschiebung der DNA-Synthese im Sinne eines früheren Beginnes.Die Summe der 25-,35-

und 45-Stunden-Werte in Gruppe C bzw.B sind dagegen annähernd gleich(38,3% bzw. 39,8% markierter Hepatozyten).Ein weiterer Hinweis für diese Hypothese ist der Markierungsindex 45 Stunden nach Teilresktion,der gegenüber dem Markierungsindex von 35 Stunden erhöht ist.Bei allen Versuchen mit einer einmaligen Teilhepatektomie zeigt sich nach der 45.Stunde nochmal eine weitere synchronisierte Synthesewelle,die aber nicht mehr so hohe Werte wie die erste um die 25.Stunde erreicht(Cater,1956,Oehlert et al, 1962,Bucher,1963,Rabes und Brändle,1969,Rabes und Tuczek, 197o).Bei Gruppe C ist diese zweite Synthesewelle nun offensichtlich bereits früher eingetreten,was wieder mit der Fähigkeit der Zellen erklärt werden kann,schneller aus der G_1-Phase in die S-Phase zu treten.Übereinstimmung zeigt sich in Gruppe C zwischen den Werten markierter Hepatozyten des lob.dextr. und denen des proc.papill.. Die beiden Kurven verlaufen annähernd parallel,die Differenz beträgt nur zwischen o,5% und 1,6% markierte Hepatozyten. Bei der Kurve der Mitosen macht sich die große Differenz der Markierungsindices zwischen den 25-bzw.35-Stunden-Werten der Gruppe C und B nicht bemerkbar.Sie verläuft mit einer nur geringen Differenz(o,o2%-o,2o% in Mitose befindlicher Hepatozyten) genau wie die der Gruppe B. Dies läßt sich nicht mit dem Verlauf der Kurven markierter Hepatozyten der Gruppe C und B korrelieren.
Das Verhältnis der markierten Hepatozyten zu den Mitosen in den jeweiligen Untergruppen ist mit einer Steubreite von 5,o5:1 bis 1o,4:1 kaum zu verwerten.Es fehlen dazu weitere Werte zwischen den 1o-Stunden Abständen.Wollte man sie trotzdem als Maß für das Verhältnis der Dauer der Synthesephase gegenüber der Mitosephase verwerten,

so ergäbe sich bei konstanter Mitosedauer (Stöcker.1967) im Mittel dergleiche Wert der Synthesedauer wie in Gruppe B (6 - 12 Stunden), was allerdings gegenüber dem Normwert von 7,2 Stunden (Stöcker,1967) im Durchschnitt eine Verlängerung bedeuten würde.

Die Verteilung der TdR - H^3- markierten Hepatozyten der Gruppe C im histologischen Bild unterscheidet sich von der in Gruppe B gefundenen. In der 25. Stunde zeigt sich bei Gruppe C eine gleichmäßige Verteilung markierter Hepatozyten auf das intermediäre und periphere Lobulusdrittel unter völliger Aussparung des zentralen Drittels, während sich bei Gruppe B vereinzelt markierte Hepatozyten im zentralen Drittel finden. In der 35. Stunde verhält es sich ähnlich: Bei Gruppe C sind intermediäres und peripheres Drittel gleichmäßig markiert, während sich im zentralen Drittel nur wenige Markierungen finden, bei Gruppe B dagegen ist das zentrale Drittel völlig ausgespart, bei gleichmäßiger Markierung des intermediären und peripheren. Nach 45 Stunden sind in Gruppe C die markierten Hepatozyten gleichmäßig über alle Drittel verteilt, während bei Gruppe B im zentralen Drittel nur vereinzelt markierte Hepatozyten zu finden sind, der größere Anteil sich dagegen im intermediären und peripheren Drittel befindet. Diese Lokalisation der TdR - H^3- markierten Hepatozyten der Gruppe C deutet also wieder auf einen schnelleren Eintritt der Hepatozyten des intermediären Drittels in die S - Phase hin. Unter den Bedingungen der Gruppe B (keine Carcinogengabe) ist die Mehrzahl dieser Zellen erst zwischen 27. und 34. Stunde markiert.(Rabes und Tuczek,1970).

Gruppe D: (zweimalige Teilhepatektomie, Daenagabe 24 Stunden nach erster Teilhepatektomie)

Wie in allen anderen Gruppen sank auch bei dieser Gruppe der Anteil der markierten Hepatozyten nach der zweiten Teilhepatektomie bis zur 15. Stunde im Vergleich zu den Kontrollwerten etwas ab, doch waren die absoluten Werte sowohl der Kontrollgruppe D0 (Daena 24 Stunden nach der ersten Teilhepatektomie, keine zweite Teilhepatektomie) als auch der Markierungsindex 15 Stunden nach Teilresektion deutlich erhöht gegenüber den Kontrollwerten und den Markierungsindices der 15. Stunde der anderen Gruppen. Gegenüber der Gruppe B betrug die Erhöhung ziemlich konstant das 3.5 - 4 - fache. Es zeigte sich ein sehr steiler Proliferationsanstieg zwischen der 15. und 25. Stunde mit einer Erhöhung von 54 % bzw. 65 % gegenüber dem 25 - Stundenwert der Gruppe B. Bei Gruppe D stieg der Markierungsindex nun im Gegensatz zur Gruppe C bis zur 35. Stunde noch weiter an und erreichte gegenüber Gruppe B eine Erhöhung von 64 % (Lobus dextrolateralis) bzw. 94 %(processus papillaris). Nach diesem rapiden Proliferationsanstieg fiel der Markierungsindex bis zur 45. Stunde sehr stark ab und lag dann unter den Werten von Gruppe B und C .
Daena wurde 24 Stunden nach der ersten Teilhepatektomie appliziert und erreicht nach 5 - 12 Stunden seine maximale Alkylierungswirkung am Guanin der Nucleinsäuren(Magee und Barnes 1967). Dies entspricht dem Zeitraum von 29 - 36 Stunden nach Teilhepatektomie. Da das Operationstrauma und der Parenchymverlust aber sicher den Katabolismus des Daena in der Leber bis zum wirksamen Diazoalkan verändert und möglicherweise verzögert, worüber aber noch keine genaueren Untersuchungen vorliegen,läßt sich auch ver-

muten, daß Daena noch über den Zeitraum von 29 - 36 Stunden nach Teilhepatektomie in seiner alkylierenden Form wirksam ist. Dies ist der Abschnitt in dem wir bei Gruppe A eine hohe Proliferationsaktivität fanden. Die Markierungsindices der Hepatozyten lagen zu diesem Zeitpunkt bei Gruppe A etwa in einem Bereich von 9% bis 12%. Die RNA - Synthese ist in diesem Zeitraum normal oder nur wenig, die DNA - Synthese aber etwa auf das 40 - 60 - Fache des Ruhewertes erhöht. (Rabes und Brändle 1969) Die maximale Wirkung von Daena wird also zu einem Zeitpunkt erreicht, in dem ein großer Prozentsatz von Hepatozyten sich in der DNA - Synthesephase befindet. Es könnte diskutiert werden, daß gerade in dieser Phase ein Teil der Parenchymzellen in seinem Genom irreversibel geschädigt würde. Im Gegensatz zur Gruppe B, in der die Proliferation nach der zweiten Teilhepatektomie in geringerem Maße in der 25. Stunde anstieg und sich dann nahezu konstant bis zur 45. Stunde hielt, tritt bei Gruppe D zwischen der 15. und 35. Stunde offensichtlich der größte Teil der proliferationsfähigen Hepatozyten in die S - Phase ein.
Im Vergleich zu den entsprechenden Werten bei Daenagabe 4 Stunden nach der ersten Teilhepatektomie ist bei Daenagabe 24 Stunden nach der ersten Teilhepatektomie die Zahl der Hepatozyten in der DNA - Synthesephase 25 Stunden nach der zweiten Teilhepatektomie um den Faktor 1.54, 35 Stunden nach der zweiten Teilhepatektomie um den Faktor 1.63 erhöht. Der starke Abfall zwischen der 35. und 45. Stunde und der niedrige 45 - Stunden - Wert deuten auf eine geringere Proliferation nach der 45. Stunde hin, als in den vergleichbaren Gruppen B und C. Es tritt also wieder eine Verschiebung des Proliferationszeitpunktes eines großen Teiles der proliferationsfähigen Hepatozyten ein, sodaß sich ein früherer Gipfel ergibt. Es könnte überlegt werden, ob dieser Gipfel

die Summe der ungeschädigten Hepatozyten, die zum gleichen Zeitpunkt auch in Gruppe B proliferieren, und außerdem der durch das Carcinogen veränderten, verstärkt proliferationsfähigen Hepatozyten darstellt. Hierfür spricht die bereits zitierte Beobachtung von Simard und Cousineau (1968), daß in präneoplastischen Geweben der G_1- Block abgeschwächt sei und die Zellen damit fähig seien, schneller in die S - Phase zu treten.

Einen ähnlichen Verlauf der Markierungsindices wie in Gruppe D mit höchster Proliferationsrate um die 32. Stunde nach Teilhepatektomie fanden auch Rabes und Tuczek (1971) nach Teilhepatektomie und zusätzlicher Intoxikation mit Allylformiat. Doch beruhte dieser Effekt auf einer Nekrotisierung des peripheren Lobulusanteils, wodurch die erst zum späteren Zeitpunkt zur Proliferation befähigten Zellen des zentralen und intermediärenDrittels (Rabes und Tuczek, 1970) als einzige und zum normalen Zeitpunkt in die S-Phase traten. Bei unserem Versuch ergab sich eine gleichmäßige Proliferation der Läppchenanteile, aber eine verstärkte Synchronisation.

Die bereits für Gruppe C diskutierte Möglichkeit, die wesentlicherhöhten 25-und35-Stunden-Werte der Gruppe D mit einer Verlängerung der DNA-Synthese-Phase durch Verzögerung der Synthese nach Daena-Applikation muß auch hier wieder wie bei Gruppe C abgelehnt werden, da damit der niedrige 45-Stunden-Wert und der steile Abfall zwischen 35.und 45.Stunde nicht in Einklang stehen würde.

Das Verhalten der Hepatozyten der processus papillares differiert in Gruppe D stärker vom Verhalten der lobus dextrolaterales, als es in den anderen Gruppen der Fall war. Hieraus resultieren zwei verschiedene Kurven, die jedoch in ihrer Tendenz übereinstimmen und nur in verschiedenem Maße diese Tendenz zeigen: steiler Anstieg 25 Stunden nach Teilresektion, weiterer

Anstieg nach 35Stunden und starker Abfall nach 45 Stunden. Die Anzahl der Mitosen differiert in den 15-,25- und 35-Stunden-Werten nur wenig von den Werten der Gruppe B,liegt jedoch bei den 45-Stunden-Werten deutlich über den Werten der anderen Gruppen.Sie betrugen das 17-Fache des Kontrollmitosewertes und zeigten als einzige Untergruppe gegenüber dem Mitoseindex der 35.Stunde nach Teilresektion noch steigende Tendenz.Das Verhältnis zwischen markierten Hepatozyten und Mitosen zu den bestimmten Zeitpunkten lag zwischen 3:1 und 14,8:1 bei den lobus dextrolaterales und zwischen 2,2:1 und 23:1 bei den processus papillares.Auf die Schwierigkeiten der Korrelation bei solchen großen Streubreiten und die Verwertbarkeit von nur drei Werten mit einem Intervall von 1o Stunden wurde bereits mehrfach hingewiesen.Wollte man die Werte trotzdem erklären,so könnte man daraus entweder eine Verlängerung oder eine Verkürzung der S-Phase ableiten.Eine Ve längerung als zusätzlicher Faktor neben der Syvnchronisationsveränderung wurde bereits erwähnt.Der 35-Stunden-Wert der Markirung würde demnach noch eine Anzahl von Hepatozyten beinhalten,die schon zur 25.Stunde markiert waren und durch die Protrahierung sich in der 35.Stunde immer noch in der S-Phase befanden. Eine andere Möglichkeit für die Erhöhung des Verhältnisses von markierten Hepatozyten zu Mitosen gibt Banerjee (1965) an:Nach Teilhepatektomie und Injektion von Dimethylamino-azobenzol (DAB) beobachtete man eine Verlängerung der G_2-Phase bzw. eine Hemmung der Zellen in dieser Phase möglicherweise durch Bindung des Carcinogens an Proteine,die die mitotische Aktivität regulieren.Ob ein solcher Effekt auch bei Applikation von Daena vorkommt,ist ungewiß.Er erklärt nicht die hohen Proliferationsraten der 25.und35.Stunde,wohl aber das erhöhte Verhältnis markierter Hepatozyten zur Anzahl der Mitosen sowie die gegenüber Gruppe B erhöhten Mitosewerte der

45.Stunde.Weitere Untersuchungen zur Dauer der einzelnen Proliferationsphasen nach Daena scheinen nötig.
Erstaunlich und mit einer Veränderung der Synchronisation des DNA-Synthese-Beginnes nicht erklärbar ist die nahe Übereinstimmung des Mitoseindex zwischen Gruppe B und C sowie zwischen Gruppe B,C und D bis zur 35.Stunde,sowie die Diskrepanz zwischen Gruppe B,C und D einerseits und Gruppe A andererseits.
Die Verteilung der TdR-H^3-markierten Hepatozyten im histologischen Bild unterscheidet sich zum Zeitpunkt der 25.und 35. Stunde nach Teilresektion nicht von dem in Gruppe C gefundenen Verteilungsmuster.Lediglich in der 45.Stunde zeigt sich bei Gruppe D ein Überwiegen der Proliferation im intermediären Lobulusdrittel,während sich im zentralen und peripheren Drittel nahezu keine markierten Hepatozyten finden,im Gegensatz zu Gruppe C, bei der in der 45.Stunde das gesamte Leberläppchen eine gleichmäßige Verteilung markierter Hepatozyten aufweist.Auch im Vergleich zu Gruppe B ist die Topik der markierten Hepatozyten der Gruppe D verändert.Während bei GruppeB 25 Stunden nach Teilresektion die meisten Markierungen im intermediären und peripheren Lobulusdrittel zu finden sind, läuft bei Gruppe D eine nahezu gleichmäßige Proliferation der Hepatozyten im gesamten Läppchen ab mit geringer Betonung des intermediären Drittels.Um die 35.Stunde ist bei Gruppe B das zentrale Drittel völlig ohne Markierung,während bei Gruppe D nahezu alle Teile gleichmäßig betroffen zu sein scheinen.
45 Stunden nach Teilresektion zeigen sich in beiden Gruppen etwa gleichstarke Markierungen im zentralen und intermediären Lobulusdrittel,in Gruppe D ist aber die Zahl markierter Hepatozyten im peripheren Drittel gegenüber Gruppe B erniedrigt.

Vergleicht man nun die Ergebnisse der Gruppe C mit denen der Gruppe D,so läßt sich sagen ,daß der Zeitpunkt der Daena-

Applikation nach einer Teilhepatektomie und damit der Zeitpunkt der maximalen Wirkung des schädigenden Diazoalkans im Zellzyclus der Hepatozyten von Bedeutung für den Proliferationsablauf nach einer zweiten Teilresektion ist. Das Entscheidende scheint dabei zu sein, in welchem Stadium des Zellzyclus die proliferationsfähigen Hepatozyten sich befinden. Erreicht die schädigende Noxe ihre Wirksamkeit zu einem Zeitpunkt, zu dem sich im Vergleichsversuch noch sehr wenige Hepatozyten in der DNA-Synthese-Phase befinden, die andererseits aber hohe RNA-Synthese-Werte aufweisen, so ist die Wirkung deutlich verschieden von der, die erzielt wird, wenn die maximale Wirksamkeit des schädigenden Agens zu einem Zeitpunkt eintritt, zu dem eine größere Anzahl von Hepatozyten sich in der DNA-Synthese-Phase befindet. Nach unseren Ergebnissen scheint die DNA-Synthese-Phase die sensibelste Periode des Zellzyklus zu sein. In dieser Phase kann das schädigende Agens offenbar intensiver direkt am Genom angreifen. Im Ruhezustand liegt die DNA in einem lockeren DNA-Protein-Komplex vor (Harbers, 1966). Die besondere Anfälligkeit der DNA für Daena in dre S-Phase könnte auf der Demaskierung der DNA, d. h. der Lösung dieses DNA-Proteinkomplexes während der Replikation beruhen.
Die durch Daena hervorgerufenen RNA-Schäden und folgende Enzymschäden führen bei der Gruppe C offensichtlich nicht zu irreversiblen Dauerschäden der Hepatozyten. Hoher Umsatz an RNA und Enzymen führt offensichtlich zur Reparation der Schäden bis zur zweiten Teilresektion. Die Daena-Wirkung zu diesem frühen Zeitpunkt nach Teilhepatektomie scheint also hauptsächlich toxischer Art für das Zytoplasma zu sein und dürfte bis zur zweiten Teilresektion zum Teil wieder ausgeglichen sein. Die Daena-Schädigung bei Gruppe D scheint durch ihren Angriff am Genom die Proliferationsveränderungen zu bewirken. Dabei

scheinen die obengenannten Reparationsmechanismen (Harbers, 1969, Haynes et al.,1961) nicht mehr ausreichend zu sein,um alle entstandenen Genomveränderungen zu beseitigen.Eine weitere Möglichkeit ,den durch Daena geänderten Mechanismus der Proliferation in Gruppe C und D gegenüber Gruppe B zu erklären,liegt darin, daß auch die Nucleohistone eine bestimmte Menge RNA enthalten(Harbers,1966,),die ebnfalls alkyliert werden kann.Harbers gibt an (1969),daß die Matritzeneigenschaft der DNA nach Alkylierung bestimmter Histone gesteigert sei,somit also auch eine Veränderung der Proliferationsmechanismen gegeben sein könnte.Ferner scheinen die Histone verantwortlich zu sein für die Verfügbarkeit genetischer Informationen mit ähnlichen Mechanismen wie die Repressor-Substanzen des Jakob-Monod-Modells (Jakob und Monod,1961) durch Ausschaltung nicht erforderlicher Chromosomenanteile durch Umwandlung von Euchromatin in Heterochromatin (Harbers,1966).Nach Daena-Cancerisierung einer Zelle wurde eine langsame Minderung der Euchromatinisierung (Normalwert 7o-8o% Euchromatin gegenüber 2o-3o% Heterochromatin) beobachtet (Harbers,1966) und damit eine weitere Einschränkung der Verfügbarkeit der in der Zelle enthaltenen Informationen im Sinne der Deletionshypothese von Potter (1964).

Berücksichtigt man dies alles,so läßt sich sagen,daß Daena je nach Applikationszeitpunkt im Regenerationszyklus verschiedenartige Schäden setzt,daß sie sich aber übereinstimmend in einer Veränderung der Regulationsmechanismen manifestieren,die zu einer Verkürzung der G_1-Phase führen.Daraus ergibt sich bereits im Ruhestadium (Gruppe D_o,D_1) ein höherer Markierungsindex als bei den Vergleichsgruppen,da die Zahl der DNA-synthetisierenden Zellen pro Zeiteinheit ansteigt.

Postuliert man die Ereignisfolge:Daena-Gendefekt-Enzymdefekt-Entdifferenzierung-höhere Proliferation gendefekter Zellen,

so könnte man die nahezu konstante Entstehung von Carcinomen in Geweben,die Daena metabolisieren können,erklären.Die Leber hat zwar eine geringe Ruheproliferation,ist aber andererseits das Hauptorgan des Daena-Katabolismus (Magee und Hultin 1962, Magee und Barnes 1967).Es entwickeln sich Carcinome der Leber nach einmaliger Gabe von Daena,auch ohne daß die Tiere hepatektomiert wurden (Schmähl et al. 196o).Hierzu waren allerdings Gesamtdosen von 2o8 mg ($\pm$ 15 mg) pro Tier nötig,was unsere Dosis von etwa 16 mg pro Tier bei Weitem übertrifft.Hier schien die Leber durch eine hohe Dosis irreversible Dauerschäden erlitten zu haben,ohne daß durch eine synchrone Proliferation eine gleichzeitige massive Schädigung des Genoms in der sensiblen DNA-Synthese-Phase provoziert wurde. Hingegen finden sich bei Ratten,die in verschiedenen Intervallen nach Teilhepatektomie einmal mit Daena (8o mg) injiziert wurden,nach langen Zeiträumen (6oo bzw. 7oo Tage) keine Lebercarcinome,sondern Nierentumoren (Rabes et al. 1971).Daraus kann geschlossen werden,daß die durch einmalige Gabe von Daena induzierten Störungen am Genom nicht im Sinne einer Cancerisierung aufzufassen sind,sondern offensichtlich nur den Regenerationsmechanismus nach Teilhepatektomie beeinflussen und verändern.
Hier soll nun noch nach der carcinogenen Wirkung auch auf die akut zytotoxischen Wirkungendes Daena eingegangen werden (wie auch der anderen Dialkylnitrosamine),die besonders am Beispiel des Dimethylnitrosamins beschrieben wurden (Heath 1962, Fiume et al. 197o,Krüger 1972).Nach Henning et al. (1971) werden vor allem die Guaninmoleküle neu synthetisierter, hochmolekularer RNA-Formen zu 7-Methylguanin alkyliert,für die eine Messenger-Funktion angenommen wird.Die zellphysiologische Auswirkung besteht dann in einem Verlust der Fähigkeit zur

Polysomenaggregation.Weiter konnte nachgewiesen werden (Henning et al.,1971,Mizrahi und Emmelot,1964, Villa-Trevino, 1967),daß die Matritzenaktivität der aus einer mit Dimethylnitrosamin vorbehandelten Leber extrahierten m-RNA erniedrigt ist.Auf hohe Dosen von Daena auftretende akute toxische Wirkungen wie acinozentrale Nekrosen und interstitielle Blutungen in der Leber sowie zirrhotische Veränderungen(Schmähl und Preussmann,1960)lassen sich jedoch mit Aminoacetonitril (Fiume et al.,1970) sowie mit Disulfiram(Schmähl et al.,1971) kompetitiv hemmen und beweisen damit die Toxizität von Daena als Ursache.

Somit läßt sich also sagen,daß in unserem Versuch bei den durch Daena hervorgerufenen Veränderungen die carcinogene Wirkung nicht eindeutig von der toxischen getrennt werden kann.Da jedoch vorwiegend neusynthetisierte RNA-Formen alkyliert werden (Henning et al.,1971),kann auch vermutet werden,daß bei Daena-Gabe 4 Stunden nach Teilhepatektomie die toxische Wirkung größer ist,als nach Daena-Gabe 24 Stunden nach Teilhepatektomie,da zu diesem Zeitpunkt vergleichsweise weniger m-RNA synthetisiert wird (Rabes und Brändle,1969), die DNA-Synthese jedoch vergleichsweise stark erhöht ist, weshalb bei dieser Gruppe die cancerisierende Wirkung erheblich stärker sein dürfte.

ZUSAMMENFASSUNG

An 78 Ratten wurde eine partielle Hepatektomie vorgenommen,um damit die Proliferation der Hepatozyten anzuregen.Durch Applikation des Lebercarcinogens Diäthylnitrosamin in verschiedenen, für den Proliferationsablauf bedeutsamen Zeitintervallen,sollte dessen Wirkung auf den Ablauf der DNA-Synthese nach einer erneuten Teilhepatektomie erfaßt werden.Bei den nur einmal teilhepatektomierten Tieren (Gruppe A) zeigte sich im Autoradiogramm der auch von anderen Autoren gefundene Ablauf der DNA-Synthese mit einem Gipfel des TdR-H^3-Markierungsindex in der 25.Stunde nach Teilresektion und einem anschließenden langsamen Absinken.Die Werte der lobus dextrolaterales lagen hierbei immer etwas höher als die der processus papillares. Auch die Zahl der Mitosen erreichte in der 25.Stunde ihren höchsten Wert.Bei einer zweiten Gruppe (Gruppe B)wurde 4 Wochen nach der ersten Teilhepatektomie eine zweite vorgenommen,bei der im Mittel 46% des Restparenchyms entfernt wurde.Die Kurve des TdR-H^3-Markierungsindex verlief hierbei nach einem flacheren Anstieg als bei GruppeA in der Form eines Plateaus ab,mit nahezu konstanten Werten in der 25.,35. und 45.Stunde,wobei die Zahl markierter Hepatozyten der processus papillares in der 25.Stunde wesentlich unter den Werten der lobus dextrolaterales lag,zu den anderen Zeitpunkten aber nahezu gleich war.Auch die Mitoseindices ergaben die Form eines Plateaus ohne deutlichen Gipfel. Bei einer dritten Gruppe (Gruppe C) wurde vier Stunden nach der ersten Teilhepatektomie Diäthylnitrosamin (80 mg/kg) intraperitoneal appliziert und vier Wochen später eine zweite Teilhepatektomie vorgenommen.Es ergab sich ein deutliches Maximum der DNA-Synthese in der 25.Stunde und ein Absinken der Markierung in der 35.Stunde.,ähnlich wie bei Gruppe A,anschließend

jedoch ein nochmaliger Anstieg in der 45. Stunde. Die Markierungsindices der processus papillares zeigten bei dieser Gruppe die gleiche Tendenz wie die der lobus dextrolaterales, lagen jedoch geringfügig niedriger. Die Anzahl der Mitosen in den lob.dextr. zeigte ähnlichen Verlauf wie bei Gruppe B, doch mit etwas niedrigeren Werten. Bei den proc.pap. dagegen ergab sich ein deutlicher Gipfel in der 35. Stunde. Bei einer vierten Gruppe wurde wie bei Gruppe B und C zweimal eine Teilresektion vorgenommen und zusätzlich 24 Stunden nach der ersten Teilresektion Diäthylnitrosamin intraperitoneal injiziert (Gruppe D). Es ergab sich eine wesentliche Erhöhung der Proliferation gegenüber den anderen Gruppen mit einem Gipfel in der 35. Stunde, der etwa das 1,5-2-fache der Werte der anderen Gruppen betrug. Das Maximum der Mitosen lag bei den lob.dextr. wie bei den pr.pap. um die 45. Stunde. Zweimalige Teilresektion hatte gegenüber einer einmaligen eine Desynchronisation der DNA-Synthese der Hepatozyten zur Folge, woraus ein plateauförmiger Kurvenverlauf resultierte. Daena-Gabe vier Stunden nach der ersten Teilresektion führte wieder zu einer verstärkten Synchronisation der DNA-Synthese. Es wurden jedoch nicht die Werte erreicht, die bei nur einmaliger Teilhepatektomie gefunden wurden. Bei Daena-Gabe 24 Stunden nach der ersten Teilresektion resultierte ein steiler Anstieg der DNA-synthetisierenden Hepatozyten. Der Markierungsindex lag hier höher als bei allen anderen Gruppen mit zweimaliger Teilhepatektomie.
Durch Gabe von Daena wird der Ablauf einer erneuten DNA-Synthese-Welle nach einer zweiten Teilresektion auch noch 28 Tage nach der einmaligen Gabe des Carcinogens modifiziert. Dem Zeitpunkt der Carcinogeninjektion im Zellzyklus kommt für das Ausmaß der Veränderungen der DNA-Synthese offenbar eine Bedeutung zu. Durch weitere Versuche werden diese Ergebnisse auch statistisch gesichert werden müssen.

L I T E R A T U R

BANERJEE,M.R.:Mitotic Blockade at G_2 after Hepatectomy during 4-Dimethyla inoazobenzene-Hepatocarcinogenesis. J.Nat.Cancer Inst.35,585-589(1965).

BUCHER,N.L.R.:Regeneration of Mamalian Liver. Intern.Rev.Cytol.15,245-3oo(1963).

BUCHER,N.L.R. and SWAFFIELD,M.N.:The Rate of Incorporation of Labeled Thymidine into the Deoxyribonucleic Acid of Regenerating Rat Liver in Relation of the Amount of Liver Excised. Canc.Res.24,1611-1625(1964).

CATER,D.B.,B.E.Holmes and L.K.Mee:Cell Division and Nucleic Acid Synthesis in the Regeneration of the Rat. Acta Radiol.46,655-667(1956).

DRUCKREY,H.,R.Preussmann,S.Ivancovic und P.Schmähl:Organotrope carcinogene Wirkung bei 65 N-Nitroso-Verbindungen. Zeitschr.Krebsf.69,1o3-198(1968).

FABRIKANT,J.I.:The kinetics of Cellular Proliferation during Liver Regeneration. J.Cell.Biol.36,551-565(1968).

FARBER,E.:Ethionine Carcinogenesis. Ad.Cancer Res.,7,383-474(1963).

FIUME,L.,G.Campadelli-Fiume,P.N.Magee and J.Holsman:Cellular Injury and Carcinogenesis. Biochem.J.12o,6o1-6o5(197o).

GRISHAM,J.W.:A Morphological Study of Deoxyribonucleid Acid Synthesis and Cell Proliferation in Regenerating Rat Liver. Canc.Res.22,842-849(1962).

HARBERS ,E:Untersuchungen an Nucleohistonen. Forschungsbericht des Bundeswissenschaftsministeriums K66-36, 1-13(1966).

HARBERS,E.:Molekulare Biologie des malignen Wachstums.

Heidelberg,(1966)

HARBERS,E.:Nucleinsäuren.Biochemie und Funktionen.
Thieme-Verlag,Stuttgart(1969).

HAYNES,R.H.,S.Wolff and I.Till:Structural Defekts in DNA and
Their Repair in Microorganisms.
Acad.Pr.New York,London(1966).

HEATH,D.F.:The Decomposition and Toxicity of Dialkylnitrosamines
in Rats.
Biochem.J.85,72-91(1961).

HENNING,W.,W.Kunz,P.Petersen,B.Schnieders und F.W.Krüger:
Charakterisierung der durch Dimethylnitrosamin in vivo
alkylierten RNS-Fraktionen der Leber.
Z.Krebsforsch.76,167-18o(1971).

HIGGINS,G.M.and R.M.Anderson:Restoration of the Liver of The
White Rat Following Partial Surgical Removal.
Arch.Path.12,186-2o2(1931).

IVANKOVIC,S. und R.Preussmann:Transplazentare Erzeugung
maligner Tumoren.
Naturwiss.57,46o(197o).

JAKOB,F. and Monod,J.:Genetic Regulatory Mechanisms in The
Synthesis of Proteins.
J.Mol.Biol.3,313-356(1961)

KRÜGER,F.-W.:Zum biochemischen Wirkungsmechanismus carcinogener
N-Nitroso-Verbindungen.
Ärztl.Forsch.26,197-2o2(1972)!

LIJINSKY,W.,J.Loo, and A.E.Ross:Mechanism of Alkylation of
Nucleic Acids by Nitrosodimethylamine.
Nature,218,1174-1175(1968).

MAGEE,P.N. and J.M.Barnes:The Production of Malignant Primary
Hepatic Tumors in The Rat by Feeding Dimethylnitrosamine.
Brit.J.Cancer1o,114-138(1956).

MAGEE,P.N. and E.Farber:Toxic Liver Injury:Carcinogenesis Methylation of Rat Liver Nucleic Acids by Dimethylnitrosamine in Vivo.
Biochem.J.83,114-124(1962).

MAGEE,P.N. and T.Hultin:Toxic Liver Injury and Carcinogenesis.
Biochem.J.83,1o6-114(1962).

MAGEE,P.N. and I.M.Barnes:Carcinogenic Nitroso Compounds.
Ad.Cancer Res.1o,163-246(1967).

MIZRAHI,I.J. and P.Emmelot:On The Mode of Action by Which The Carcinogen Dimethylnitrosamine Inhibits Protein Synthesis in The Liver.
Biochem.biophys.Acta 91,362-381(1964).

OEHLERT,W.,W.Haemmerling und F.Büchner:Der zeitliche Ablauf und das Ausmaß der DNS-Synthese in der regenerierenden Leber der Ratte nach Teilhepatektomie.
Beit.Path.Anat.126,91-112(1962).

POTTER,V.R.:Cellular Control Mechanisms and Cancer.
Hrsg.:Emmelot,p. and O.Mühlbeck.Elsevier,Amsterdam(1964)

RABES,H. and H.Brändle:Synthesis of RNA,Protein and DNA in The Liver of Normal and Hypophysectomized Rats after Partial Hepatectomy.
Canc.Res.29,817-822(1969).

RABES,H.,R.Hartenstein and P.Scholze:Specific Stages of Cellular Response to Homeostatic Control during Diethylnitrosamine-Induced Liver Carcinogenesis.
Experientia26,1356-1359(197o).

RABES,H. und H.V.Tuczek:Quantitative autoradiographische Untersuchung zur Heterogenität der Leberzellproliferation nach partieller Hepatektomie.
Virchows Arch.Abt.B.Zellpath.6,3o2-312(197o).

RABES,H. und H.V.Tuczek:Zellproliferation in der partiell resezierten Rattenleber nach akuter Intoxikation durch Allylformiat.
Beitr.Path.143,14-28(1971).

RABES,H.,R.Hartenstein und J.Gminder:Nierentumoren bei partiell hepatektomierten Ratten.
Naturwiss.58,1o2-1o3(1971).

DE RUECK A.V.S. and J.Knight:Histones.Their Role in The Transfer of Genetic Information.
London(1966).

SANDER,J.:Induktion maligner Tumoren bei Ratten durch gleichzeitige Verfütterung von Nitrit und sekundären Aminen.
Z.Krebsforsch.73,54-66(1969).

SCHÄHL,D. und R.Preussmann: Leberkreserzeugende Wirkung von Diäthylnitrosamin nach oraler Gabe bei Ratten.
Naturwiss.47,89(1960).

SCHÄHL,D.,F.W.Krüger,S.Ivankovic und R.Preissler:Verminderung der Toxizität von Dimethylnitrosamin bei Ratten und Mäusen nach Behandlung mit Disulfiram.
Arzneimittelforsch.21,156o-1573(1971).

SIMARD,A. and G.Cousineau:Variation in The Cell Cycle during Azo Dye Hepatocarcinogenesis.
J.Nat.Cancer Inst.41,1257-1263(196o).

SIMSON,G.E.C. and E.S.Finckh:The Pattern of Regeneration of Rat Liver After Repeated Partial Hepatectomies.
J.Bact.Path.86,361-37o(1963).

STÖCKER,E. und U.Pfeifer:Autoradiographische Untersuchung mit ^{3}H-Thymidin an der regenerierenden Leber.
Z.Zellforsch.79,374-388(1967).

TUCZEK,H.V.:Autoradiographische Untersuchungen zur Topik der RNA- und DNA-Synthese in der regenerierenden Leber.
Dissertation,München(197o).

TUCZEK,H.V. und H.Rabes:Verlust der Proliferationsfähigkeit der Hepatozyten nach subtotaler Hepatektomie. Experientia27,526(1971).

VILLA-TREVINO,S.:A Possible Mechanism of Inhibition of Protein Synthesis by Dimethylnitrosamine. Biochem.J.102,625-631(1967).

stand zwischen
R-H_3-Injektion
d

ilhepatektomie	Nr.	Unmark.Zellen	Mark.Zellen	Mitosen	Mark.-Index	Mitoseindex
ø	A_0,1	6960	26	14	0.37%	0.20%
	2	6993	3	4	0.04%	0.06%
	3	6992	3	5	0.04%	0.07%
Mittelwert u. mittlerer Fehler					0.15%±0.010%	0.11%±0.06%
15 Std.	A_I,1	6988	8	4	0.11%%	0.06%
	2	6995	2	3	0.03%	0.04%
	3	6990	4	6	0.06%	0.09%
	5	6991	5	4	0.07%	0.06%
Mittelwert u. mittlerer Fehler					0.07%±0.02%	0.06%±0.02%
25 Std.	A_{II},1	5479	1318	293 132	18,83%	2.90%
	2	5465	1403	132	20.04%	1.89%
	3	5754	1085	161	15.50%	2.30%
	4	4881	1855	264	26.50%	3.77%
	5	5161	1598	241	22.84%	3.44%
Mittelwert u. mittlerer Fehler					20.74%±1.86%	2.86%±0.35%
35 Std.	A_{III},1	5552	1200	248	17.14%	3.54%
	2	6090	722	188	10.31%	2.69%
	3	6070	806	124	11.51%	1.77%
	5	6265	578	157	8.26%	2.24%
Mittelwert u. mittlerer Fehler					11.78%±1.91%	2.59%±0.37%
45 Std.	A_{IV},1	6325	552	123	7.89%	1.77%
	2	6286	628	83	8.97%	1.23%
	3	6383	601	116	8.59%	1.64%
	4	6181	714	105	10.28%	1.50%
	5	6282	604	114	8.63%	1.63%
Mittelwert u. mittlerer Fehler					8.86%±0.46%	1.55%±0.10%

Tabelle 1: Einzelwerte aller Versuchstiere, arithmetisches Mittel und mittlere Fehler der Mittelwerte der Markierungs- und Mitoseindices der lobus dextrolaterales der Gruppe A (einmalige Hepatektomie).

Abstand zwischen TdR-H_3-Injektion und Teilhepatektomie	Nr.	Unmark. Zellen	Mark. Zellen	Mitosen	Mark.-Index	Mitoseind
Ø	A_0,1	6981	1o	9	0.14%	0.13%
	3	6989	4	6	0.06%	0.09%
Mittelwert u. mittlerer Fehler					o.1o%±o.o4%	o.11%±o.o
15 Std.	A_I,3	6993	4	3	o.o6%	o.o4%
	5	6998	o	2	o.oo%	o.o3%
25 Std.	A_{II},1	5916	9o2	182	12.89%	2.6o%
	2	5375	1513	112	23.o4%	1.7o%
	3	5464	1357	179	19.39%	2.56%
	4	6o2o	918	62	11.68%	o.9o%
	5	5462	142o	118	2o.29%	1.7o%
Mittelwert u. mittlerer Fehler					17.46%±2.2o%	1.89%±o.3
35 Std.	A_{III},1	588o	917	2o3	11.67%	2.9o%
	2	5894	94o	166	12.oo%	2.38%
	3	627o	638	92	9.11%	1.31%
	5	652o	376	1o4	5.37%	1.5o%
Mittelwert u. mittlerer Fehler					9.54%±1.52%	2.o2%±o.3
45 Std.	A_{IV},1	6477	418	1o5	5.97%	1.5o%
	2	6263	629	1o8	8.98%	1.59%
	5	6244	598	158	8.54%	2.26%
Mittelwert u. mittlerer Fehler					7.83%±o.93%	1.76%±o.2

Tabelle 2: Einzelwerte aller Versuchstiere, arithmetisches Mittel und mittlerer Fehler der Mittelwerte der Markierungs- und Mitoseindices der processus papillares der Gruppe A (einmalige Teilhepatektomie).

ostand zwischen iR-H_3-Injektion nd eilhepatektomie	Nr.	Unmark.Zellen	Mark.Zellen	Mitosen	Mark.-Index	Mitoseindex
Ø	B_0,1	6994	2	4	o.o3%	o.o6%
	2	6978	12	1o	o.19%	o.14%
	3	6972	18	1o	o.26%	o.14%
Mittelwert u. mittlerer Fehler					o.16%±o.o7%	o.11%±o.o2%
15 Std.	B_I,2	6989	4	7	o.o6%	o.1o%
	3	6987	7	6	o.1o%	o.o9%
	4	6984	8	8	o.11%	o.11%
	6	698o	1o	1o	o.14%	o.14%
Mittelwert u. mittlerer Fehler					o.1o%±o.o2%	o.11%±o.o2%
25 Std.	B_{II},1	5742	1158	1oo	16.54%	1.43%
	2	5855	1o13	132	14.47%	1.9o%
	3	6342	595	63	8.5o%	o.9o%
	4	6o15	777	2o8	11.1o%	2.99%
Mittelwert u. mittlerer Fehler					12.65%±1.78%	1.81%±o.43%
35 Std.	B_{III}, 2	5678	1227	95	17.53%	1.36%
	3	6129	682	189	9.74%	2.7o%
	4	5589	1299	112	18.56%	1.6o%
	5	61o3	797	1oo	11.39%	1.46%
Mittelwert u. mittlerer Fehler					14.3o%±2.19%	1.83%±o.3o%
45 Std.	B_{IV},1	6121	776	1o3	11.o9%	1.49%
	3	5883	1o25	92	14.64%	1.31%
Mittelwert u. mittlerer Fehler					12.87%±1.78%	1.4o%±o.o9%

Tabelle 3: Einzelwerte aller Versuchstiere, arithmetisches Mittel und mittlerer Fehler der Mittelwerte der Markierungs- und Mitoseindices der lobus dextrolaterales der Gruppe B (zweimalige Teilhepatektomie im Abstand von 4 Wochen).

Abstand zwischen TdR-H_3-Injektion und Teilhepatektomie	Nr.	Unmark.Zellen	Mark.Zellen	Mitosen	Mark.-Index	Mitoseinde
Ø	B_0,2	6984	1o	6	o.14%	o.o9%
15 Std.	B_I,2	699o	2	8	o.o3%	o.11%
	3	699o	6	4	o.o9%	o.o6%
	4	6994	o	6	o.oo%	o.o9%
	6	6986	1o	4	o.14%	o.o6%
Mittelwert u. mittlerer Fehler					o.o7%±o.o3%	o.o8%±o.o1
25 Std.	B_{II},1	6125	799	76	11.41%	1.o9%
	2	5979	888	133	12.69%	1.9o%
	3	6632	338	3o	4.83%	o.43%
	4	655o	84	366	1.2o%	5.23%
M ittelwert u. mittlerer Fehler					7.53%±2.72%	2.o1%±o.84
35 Std.	B_{III},2	5678	1196	126	17.o9%	1.8o%
	3	6181	636	183	9.o9%	2.61%
	4	56o8	1314	78	18.77%	1.11%
	5	6o96	79o	114	11.29%	1,63%
Mittelwert u. mittlerer Fehler					14.o6%±2.3o%	1.79%±o.31
45 Std.	B_{IV},1	6o24	852	124	12.17%	1.77%
	3	5993	9o5	1o2	12.93%	1.46%
Mittelwert u. mitlerer Fehler					12.55%±o.38%	1.62%±o.16

Tabelle 4: Einzelwerte aller Versuchstiere,arithmetisches Mittel und mittlerer Fehler der Mittelwerte der Markierungs- und Mitoseindices der processus papillares der Gruppe B (zweimalige Teilhepatektomie im Abstand von 4 Wochen).

stand zwischen
R-H_3-Injektion
d
ilhepatektomie

		Nr.	Unmark.Zellen	Mark.Zellen	Mitosen	Mark.-Index	Mitoseindex
15 Std.	C_I,3		6990	4	6	0.06%	0.09%
25 Std.	C_{II},2		5454	1385	161	19.78%	2.30%
		4	5802	1127	71	16.10%	1.01%
Mittelwert u. mittlerer Fehler						17.94%±1.84%	1.65%±0.65%
35 Std.	C_{III},1		6495	389	116	5.56%	1.64%
		3	6014	872	114	12.60%	1.63%
Mittelwert u. mittlerer Fehler						9.08%±3.52%	1.63±0.01%
45 Std.	C_{IV},1		6067	861	72	12.30%	1.03%
		2	6207	717	76	10.24%	1.09%
Mittelwert u. mittlerer Fehler						11.27%±1.03%	1.06%±0.03%

Tabelle 5: Einzelwerte aller Versuchstiere,arithmetisches Mittel und mittlerer Fehler der Mittelwerte der Markierungs- und Mitoseindices der lobus dextrolaterales der Gruppe C (zweimalige Teilhepatektomie im Abstand von 4 Wochen und Applikation von Diäthylnitrosamin 4 Stunden nach der ersten Teilhepatektomie).

Abstand zwischen $TdR\text{-}H_3$-Injektion und Teilhepatektomie	Nr,	Unmark.Zellen	Mark.Zellen	Mitosen	Mark.-Index	Mitoseindex
15 Std.	C_I,3	6992	2	6	o.o3%	o.o9%
25 Std.	C_{II},2	5636	1245	119	17.78%	1.9o%
	4	5882	1o44	74	14.91%	1.o6%
Mittelwert u. mittlerer Fehler					16.35%±1.44%	1.48%±o.42
35 Std.	C_{III},1	6585	271	144	3.87%	2.o5%
	3	5979	879	142	12.7o%	2.o3%
Mittelwert u. mittlerer Fehler					8.28%±4.42%	2.o4%±o.o1
45 Std.	C_{IV},1	5865	994	141	14.2o%	2.o1%
	2	6376	547	1o7	7.38%	1.53%
Mittelwert u. mittlerer Fehler					1o.79%±3.41%	1.77%±o.24

Tabelle 6: Einzelwerte aller Versuchstiere,arithmetisches Mittel und mittlere Fehler der Mittelwerte der Markierungs-und Mitoseindic der processus papillares der Gruppe C (zweimalige Teilhepatektomie im Abstand von 4 Wochen und Applikation von Diäthylnitrosamin 4 Stunden nach der ersten Teilhepatektomie).

stand zwischen
R-H_3-Injektion
d
ilhepatektomie

		Nr.	Unmark.Zellen	Mark.Zellen	Mitosen	Mark.-Index	Mitoseindex
ø		D_0,1	6954	38	8	o.54%	o.11%
15	Std.	D_I,1	6972	16	12	o.23%	o.17%
		2	6946	42	12	o.6o%	o.17%
		4	6966	27	7	o.38%	o.1o%
	Mittelwert u. mittlerer Fehler					o.4o%±o.11%	o.14%±o.o2%
25	Std.	D_{II},2	496o	1892	148	27.29%	2.11%
		4	58o5	1118	77	15.99%	1.1o%
		5	58o5	1o6o	135	15.14%	1.93%
	Mittelwert u. mittlerer Fehler					19.47%±3.92%	1.71%±o.31%
35	Std.	D_{III},3	5257	1633	11o	23.33%	1.57%
45	Std.	D_{IV},1	5844	959	197	13.9o%	2.81%
		2	648o	451	69	6.44%	1.oo%
		3	6216	68o	1o4	9.91%	1.5o%
		4	6188	664	148	9.48%	2.1o%
	Mittelwert u. mittlerer Fehler					9.94%±1.53%	1.85%±o.12%

Tabelle7: Einzelwerte aller Versuchstiere,arithmetisches Mittel und mittlere Fehler der Mittelwerte der Markierungs- und Mitoseindices der lobus dextrolateralen der Gruppe D (zweimalige Teilhepatektomie im Abstand von 4 Wochen und Applikation von Diäthylnitrosamin 24 Stunden nach der ersten Teilhepatektomie).

Abstand zwischen TdR-H_3-Injektion und Teilhepatektomie	Nr.	Unmark.Zellen	Mark.Zellen	Mitosen	Mark.-Index	Mitoseinde
ø	D_0,1	6954	32	14	o.47%	o.2o%
15 Std.	D_I,1	6974	16	1o	o.23%	o.14%
	2	6952	3o	18	o.43%	o.26%
	4	6982	11	7	o.16%	o.1o%
Mittelwert u. mittlerer Fehler					o.27%±o.o7%	o.17%±o.o4
25 Std.	D_{II},2	5752	115o	98	15.93%	1.26%
	4	6o93	837	7o	11.96%	1.oo%
	5	619o	665	145	9.5o%	2.o1%
Mittelwert u. mittlerer Fehler					12.46%±1.87%	1.44%±o.3o
35 Std.	D_{III},3	4998	1911	91	27.3o%	1.3o%
45 Std.	D_{IV},1	5898	891	211	12.59%	3.oo%
	2	647o	431	99	6.16%	1.41%
	3	6516	6o6	78	8.66%	1.11%
	4	6369	48o	124	6.87%	1,77%
Mittelwert u. mittlerer Fehler					8.57%±1.43%	1.82%±o.42

Tabelle 8: Einzelwerte aller Versuchstiere,arithmetisches Mittel und mittlerer Fehler des Mittelwertes der Markierungs- und Mitoseindices der processus papillares der Gruppe D (zweimalige Teilhepatektomie im Abstand von 4 Wochen und Applikation von Diäthylnitrosamin 24 Stunden nach der ersten Teilhepatektomie).

r.	Unmark.Z.	Mark.Z.	Mitosen	Mark.-Index	Mitose-Ind.	%Nekrose d.lob.dex.	Mark.I.in% des Mittel= wertes der gleichen Gr.
,1	6989	---	11	------	o.16%	1oo%	----
5	6992	---	8	------	o.11%	71.8%	----
V,2	4884	1999	117	28.56%	1.69%	54.8%	227%
,1	6992	----	8	------	o.11%	1oo.o%	----
,2	6979	7	14	o.1o%	o.2o%	64.4%	333%
I,3	6431	543	26	7.76%	o.39%	1oo.o%	47%
II,4	4699	2225	76	31.78%	1.1o%	35.3%	384%
5	5269	1663	68	23.76%	1.oo%	71.3%	287%
V,3	58o6	116o	34	16.57%	o.49%	2o.o%	153%
4	5o97	1785	118	25.5o%	1.9o%	67.7%	236%
,3	6982	12	6	o.17%	o.o9%	6o,7%	63%
5	6987	7	6	o.1o%	o.o9%	1oo.o%	33%
I,1	4822	21o3	75	3o.o4%	1.o7%	63.2%	24o%
3	5191	1774	35	25.34%	o.5o%	85.4%	2o3%
II,1	496o	1881	159	26.78%	2.27%	49.1%	98%
2	5837	1o25	138	14.64%	1.97%	19.o%	54%

abelle 9: Beeinflussung der Markierungs- und Mitoseindices der processus papillares durch Nekrosen im lobus dextrolateralis, Verhältnis der Markierungsindices der processus papillares bei nekrotischem lobus dextrolateralis zu den Mittlwerten der Markierungsindices der processus papillares der gleichen Untergruppe bei nicht nekrotischem lobus dextrolateralis.

Gruppe	1.Hepatektomie	Intervall zw.1. Hep.u.DAENA-Gabe	2.Hepatektomie	Intervall zw. letzter Hepat. u.Injektion von TdR-H_3	Anzah
AO	-	--	-	~~45 Std.~~	3
AI	+	--	-	15 Std.	5
AII	+	--	-	25 Std.	5
AIII	+	--	-	35 Std.	5
AIV	+	--	-	45 Std.	5
BO	+	--	-	-------	3
BI	+	--	+	15 Std.	3
BII	+	--	+	25 Std.	5
BIII	+	--	+	35 Std.	4
BIV	+	--	+	45 Std.	6
CO	+	4 Std.	-	-------	-
CI	+	4Std.	+	15 Std.	4
CII	+	4 Std.	+	25 Std.	5
CIII	+	4 Std.	+	35 Std.	4
CIV	+	4 Std.	+	45 Std.	3
DO	+	24 Std.	-	-------	1
DI	+	24 Std.	+	15 Std.	4
DII	+	24 Std.	+	25 Std.	3
DIII	+	24 Std.	+	35 Std.	5
DIV	+	24 Std.	+	45 Std.	5

Tabelle 1o: Zusammenfassung der Behandlung der Tiere in den einzelnen Gruppen und Untergruppen.

Gruppe B:

I:	II:	III:
3.342g	6.145g	3.408g
3.118g	4.902g	5.062g
3.560g		3.588g
2.257g		2.630g
3.078g		4.600g
Mittelwert: 3.071g	Mittelwert: 5.523g	Mittelwert: 3.857g

Mittelwert aus I + II + III: 3.816g = 46.74% des Lebergesamtgewichtes.

Gruppe C:

I:	II:	III:
2.890g	4.667g	4.667g
2.763g	4.191g	5.754g
3.144g	3.647g	6.927g
	3.686g	5.110g
	4.375g	
Mittelwert: 2.932g	Mittelwert: 3.847g	Mittelwert: 5.614g

Mittelwert aus I + II + III: 4.207g = 51.84% des Lebergesamtgewichtes.

Gruppe D:

I:	II:	III:
2.104g	5.670g	3.872g
2.532g	6.220g	3.909g
3.522g	4.890g	3.853g
6.874g	5.280g	3.901g
2.618g		3.740g
		3.049g
Mittelwert: 3.530g	Mittelwert: 5.515g	Mittelwert: 3.722g

Mittelwert aus I + II + III : 4.137g = 50.68% des lebergesamtgewichtes.

Lebergesamtgewichte vor Teilhepatektomie:

7.393g
8.137g
9,060g
8.062g

Mittelwert: 8.163g

Tabelle 11: Gewichte der resezierten Leberlappen bei der zweiten Teilhepatektomie und Lebergesamtgewichte unbehandelter Kontrolltiere.

	Markierungsindex Gr.B/ Markierungsindex GrA in %	Markierungsindex Gr.C/ Markierungsindex Gr.B in%	Mark.-Index GrD/ Mark.-Index Gr in
0	1o6 %	0	---
I	143 %	I 38 %	I 666 %
II	61 %	II 142 %	II 1o9 %
III	121 %	III 63 %	III 257 %
IV	145 %	IV 88%	IV 88 %

Tabelle 12 : Verhältnis der Mittelwerte der Markierungsindices der einzelnen Untergruppen der GruppeB zu Gruppe A, der Gruppe C im Vergleich zu GruppeB und der Gruppe D im Vergleich zu Gruppe C im den lobus dextrolaterales.

	Mitoseindex Gr.B/ Mitoseindex Gr.A in%	Mitoseindex Gr.C/ Mitoseindex Gr.B in%	Mitoseindex Gr.D/ Mitoseindex Gr.C in%
0	1oo%	0 ----	0 ---
I	183%	I 82%	I 155%
II	63%	II 91%	II 1o4%
III	7o%	III 88%	III 96%
IV	3o%	IV 97%	IV 136%

Tabelle 13 : Verhältnis der Mittelwerte der Mitoseindices der einzelnen Untergruppen der Gruppe B im Vergleich zu Gruppe A, der Gruppe C im Vergleich zu Gruppe B und der Gruppe D im Vergleich zu Gruppe C in den lobus dextrolaterales.

Markierungsindex Gr.B/ Markierungsindex Gr.A in%		Markierungsindex Gr.C/ Markierungsindex Gr.B in%		Markierungsind.Gr.D/ Markierungsind.Gr.Bin%	
0	14o%	0	----	0	----
I	233%	I	43%	I	9oo%
II	43%	II	217%	II	76%
III	147%	III	58%	III	329%
IV	16o%	IV	86%	IV	79%

Tabelle 14 : Verhältnis der Mittelwerte der Markierungsindices der einzelnen Untergruppen der Gruppe B im Vergleich zu GruppeA, der Gruppe C im Vergleich zu Gruppe B,und der Gruppe D im Vergleich zu Gruppe C in den processus papillares.

Mitoseindes Gr.B/ Mitoseindex Gr.A in%		Mitoseindex Gr.C/ Mitoseindex Gr.B in%		Mitoseindex Gr.D/ MitoseindexGr. C in%	
0	82%	0	----	0	[illegible]
I	266%	I	1oo%	I	188%
II	1o6%	II	74%	II	96%
III	88%	III	113%	III	63%
IV	92%	IV	1o9%	IV	1o3%

Tabelle 15 : Verhältnis der Mittelwerte der Mitoseindices der einzelnen Untergruppen der Gruppe B im Vergleich zu GruppeA, der Gruppe C im Vergleich zu Gruppe B und der GruppeD im Vergleich zu Gruppe C in den processus papillares.

	Gruppe A	Gruppe B	Gruppe C	GruppeD
0	66%	87%	---	87%
I	43%	7o%	5o%	63%
II	84%	59%	91%	64%
III	81%	98%	91%	118%
IV	88%	98%	96%	86%

Tabelle 16 : Verhältnis der Mittelwerte der Markierungsindices der processus papillares im Vergleich zu den Mittelwerten der Markierungsindices der lobus dextrolaterales.der gleichen Untergruppe.

	Gruppe A	Gruppe B	Gruppe C	Gruppe D
0	11o%	82%	----	182%
I	5o%	73%	1oo%	121%
II	68%	111%	89%	84%
III	77%	97%	125%	83%
IV	113%	116%	13o%	98%

Tabelle 17 : Verhältnis der Mittelwerte der Mitoseindices der processus papillares im Vergleich zu den Mittelwerten der Mitoseindices der lobus dextrolaterales der gleichen Untergruppe.

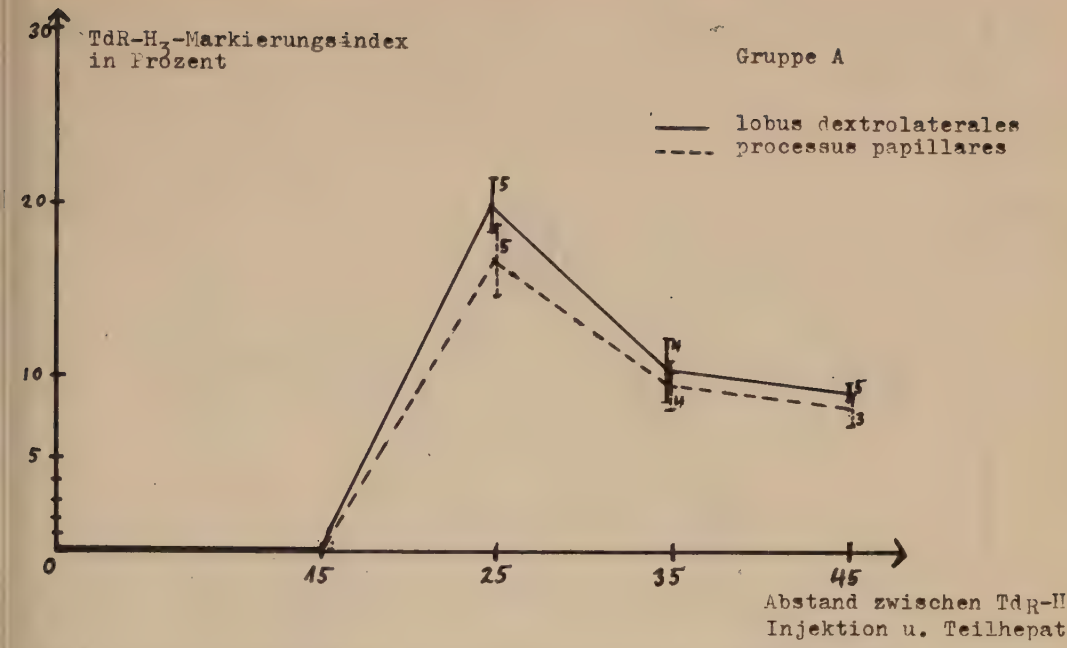


Abb.1: Markierungsindex der lob.dextrolat. und proc.papill. nach einmaliger Zweidrittelresektion.

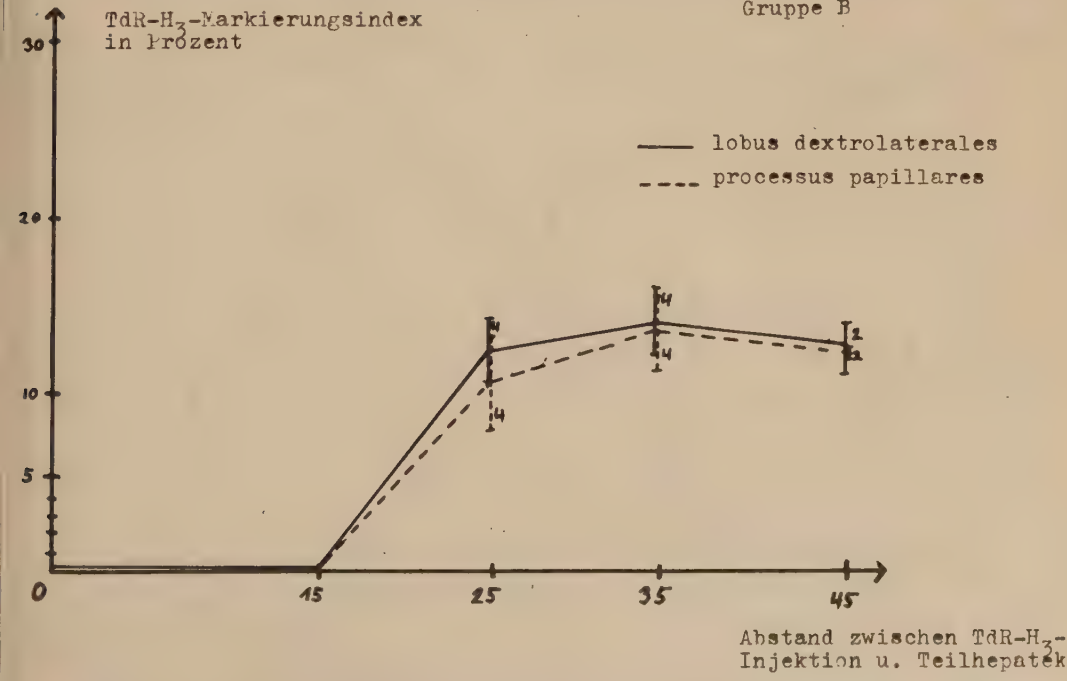


Abb.2: Markierungsindex der lob.dextrolat. und proc.papill.nach zweimaliger Teilresektion im Abstand von vier Wochen.

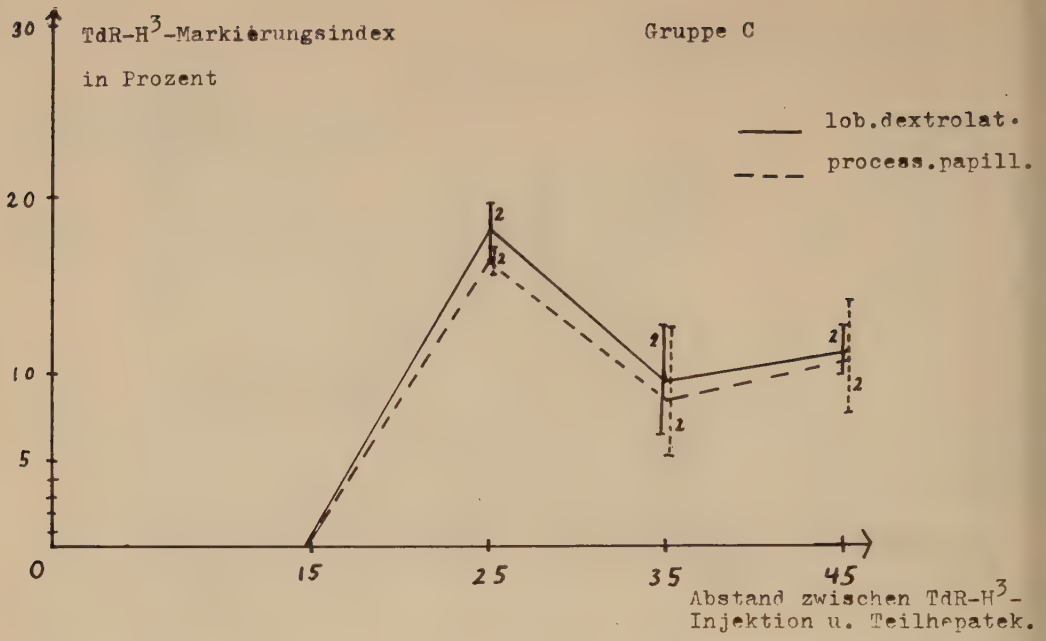


Abb.3: Markierungsindex der lob.dextrolat. und process.papill. nach zweimaliger Teilresektion im Abstand von vier Wochen und Applikation von Diäthylnitrosamin vier Stunden nach erster Teilresektion.

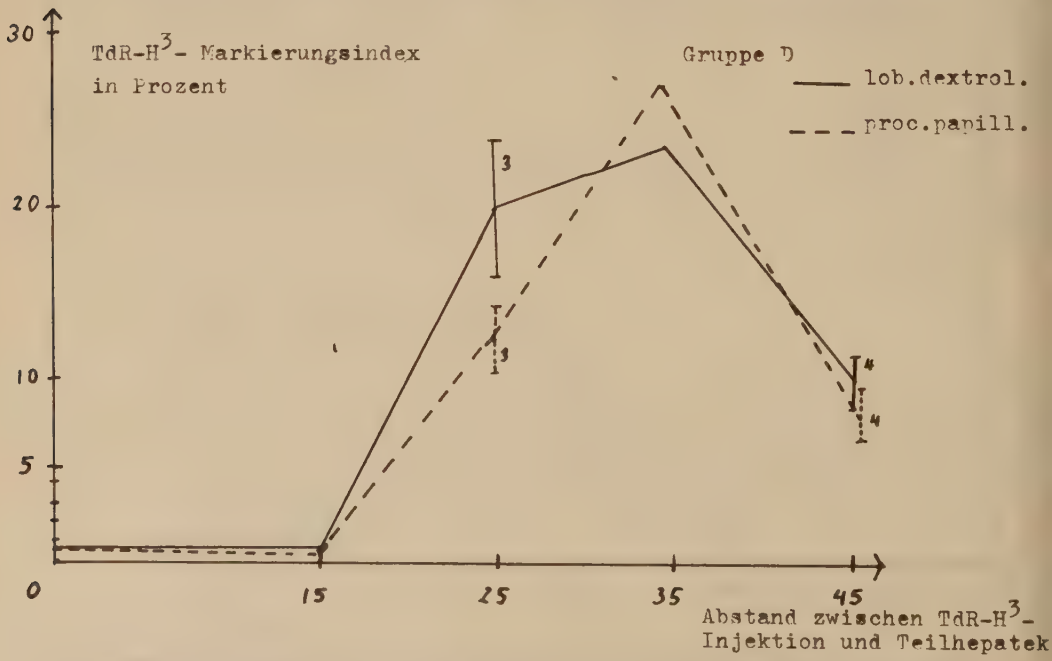


Abb.4: Markierungsindex der lob.dextolat. und proc.papill. nach zweimaliger Zeilresektion im Abstand von vier Wochen und Applikation von Diäthylnitrosamin 24 Stunden nach erster Teilresektion.

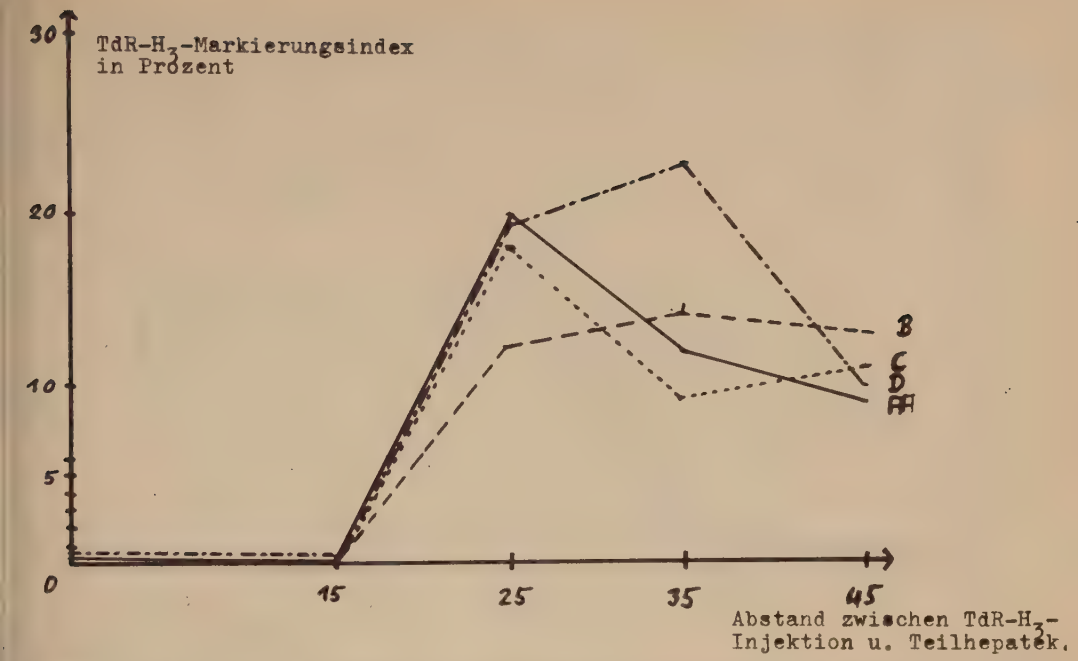


Abb.5: Vergleichende Darstellung der Markierungsindices der lobus dextrolat. der Gruppen A,B,C und D.

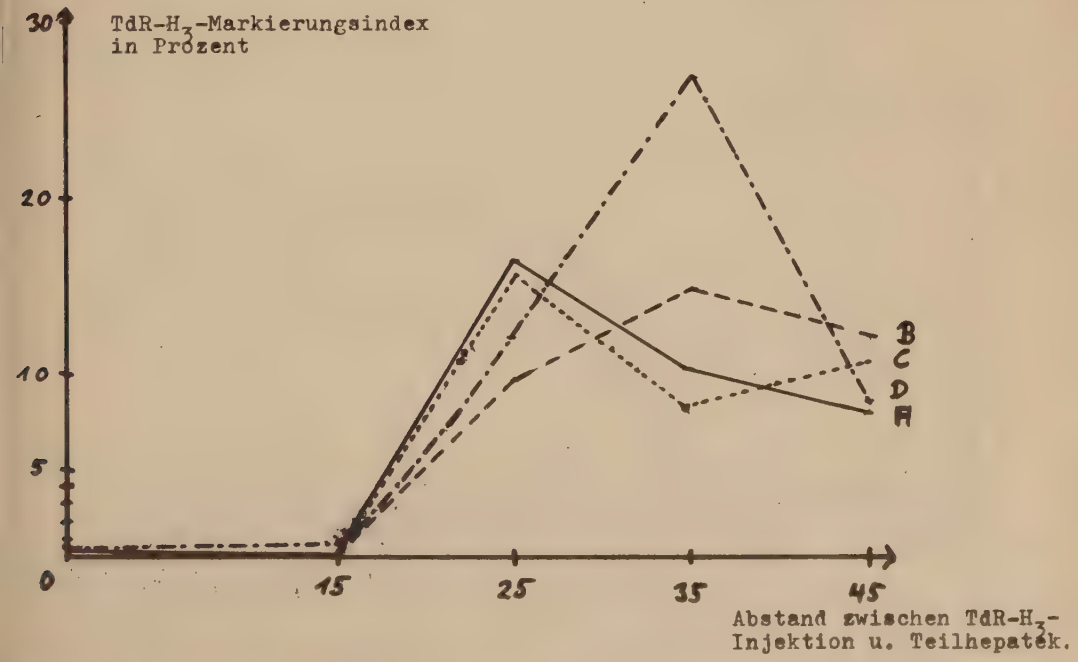


Abb.6: Vergleichende Darstellung der Markierungsindices der processus papillares der Gruppen A,B,C und D.

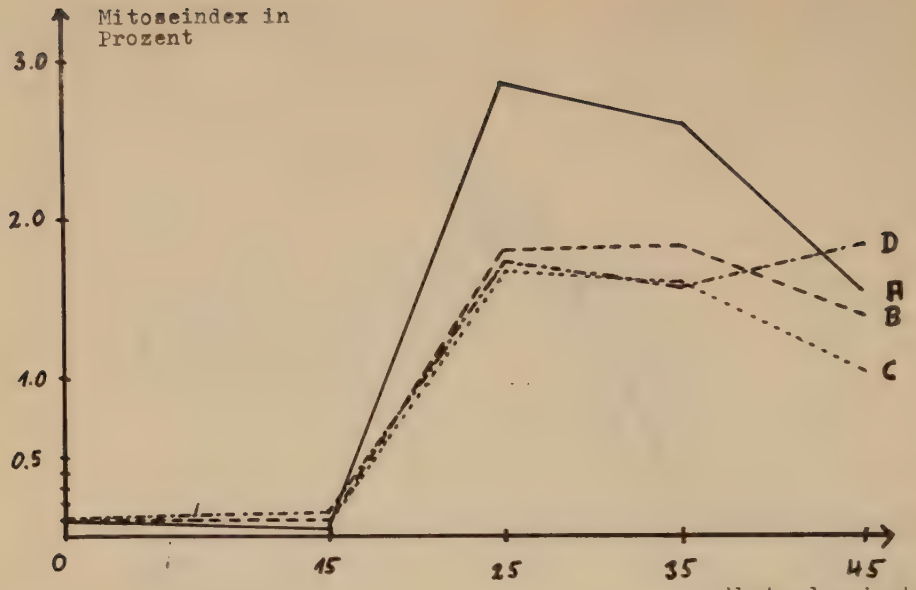


Abb.7: Vergleichende Darstellung der Mitoseindices der lobus dextrolaterale der Gruppen A,B,C und D.

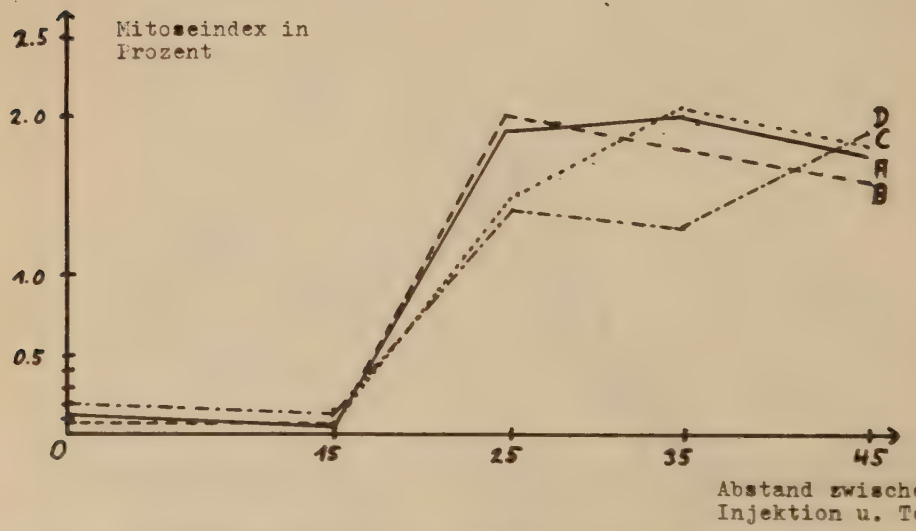


Abb.8: VergleichendeDarstellung der Mitoseindices der processus papillares der Gruppen A,B,C und D.

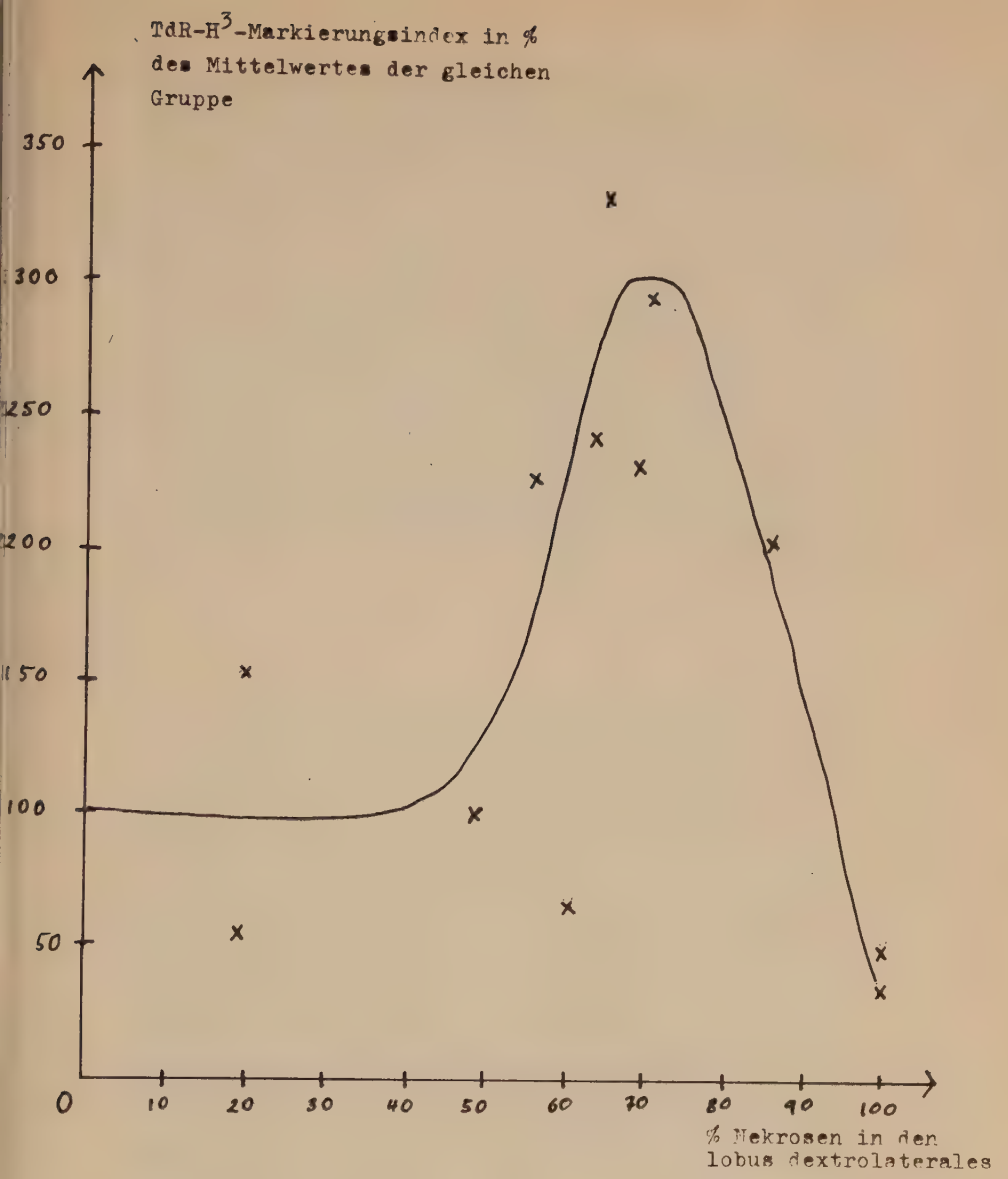
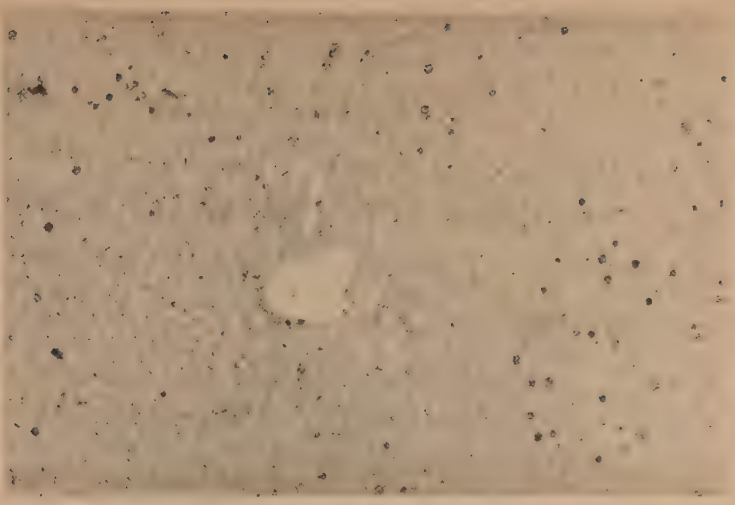


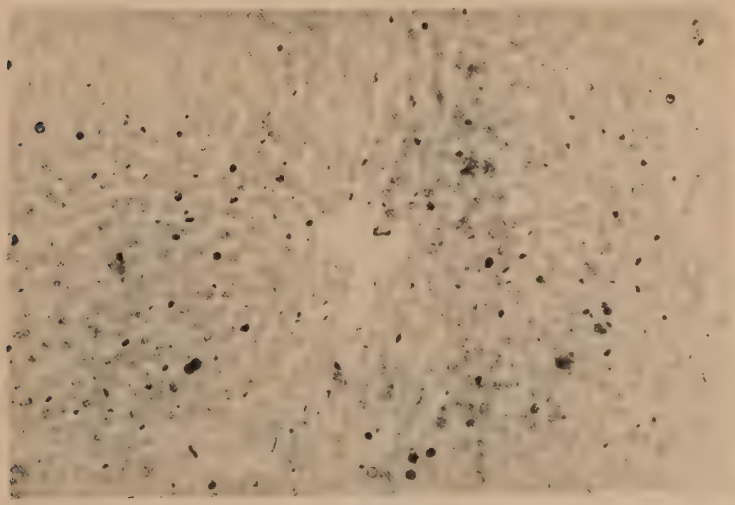
Abb.9: Beeinflussung des Markierungsindex der processus papillares durch Nekrosen in den lobus dextrolaterales.

Ordinate: Markierungsindex der einzelnen Tiere im proc.papill. bei nekrotischem lobus dextrolateralis in % des Mittelwer der gleichen Untergruppe ohne Nekrose. e

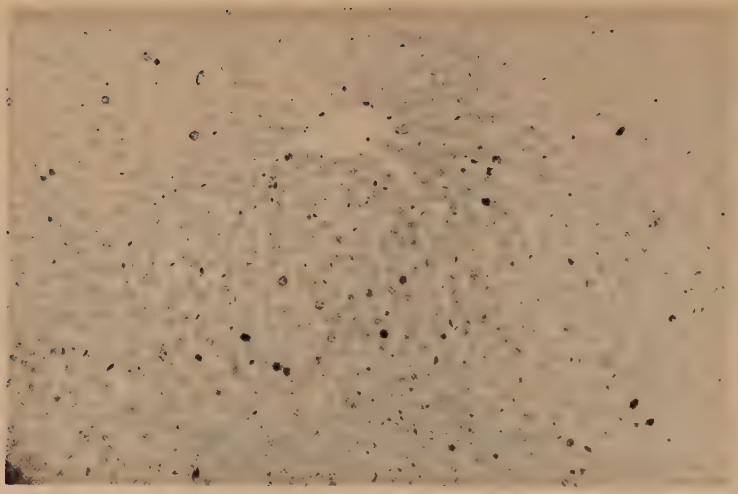
Abszisse: Prozentualer Anteil der Nekrosen im lobus dextrolateralis



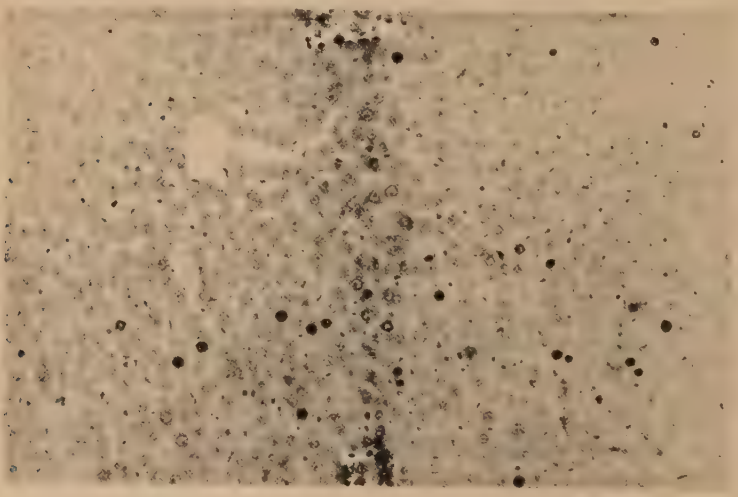
Gruppe A_{II}:(Einmalige Teilresektion,TdR-H^3-Gabe 25 Std. danach)
Höchste Markierungsdichte in der Lobusperipherie.



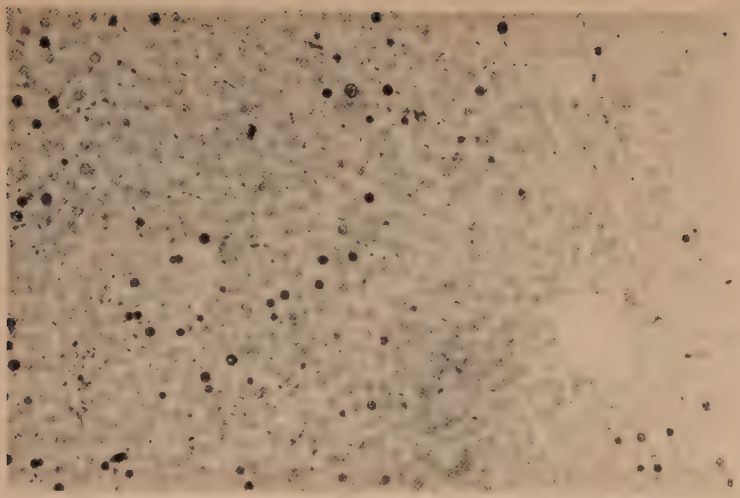
Gruppe A_{IV}:(Einmalige Teilresektion,TdR-H^3-Gabe 45 Std. danach)
Gleichmäßige Verteilung der Markierung über den Lobulus.



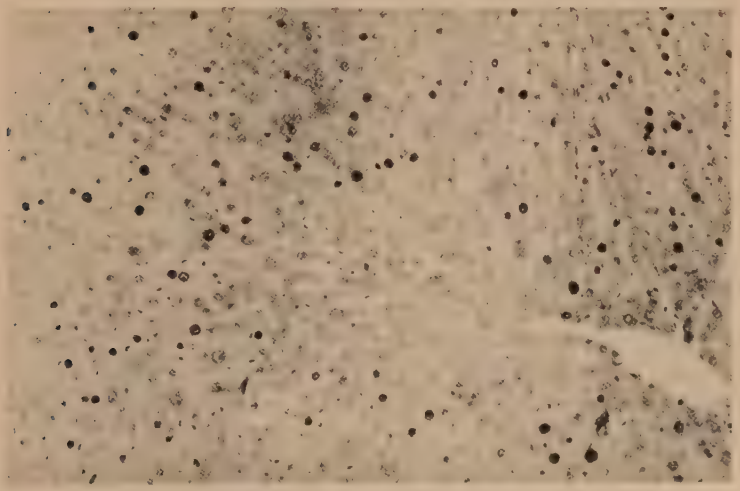
Gruppe B_{II}: (Zweimalige Teilresektion im Abstand von vier Wochen, $TdR\text{-}H^3$- Gabe 25 Std. nach erster Teilresektion) Markierungsmaximum im intermediären und peripheren Lobulusdrittel.



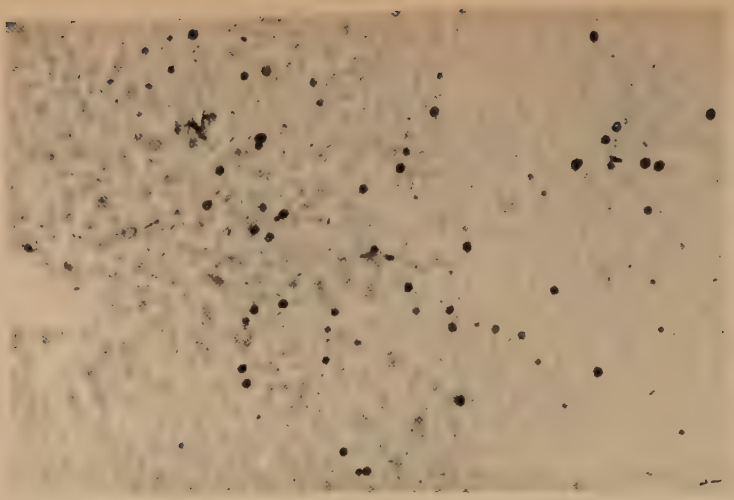
Gruppe B_{III}: (Zweimalige Teilresektion im Abstand von vier Wochen, $TdR\text{-}H^3$-Gabe 35 Std. nach erster Teilresektion) Markierungsmaximum im intermediären und peripheren Lobulusdrittel bei völliger Aussparung des zentralen.



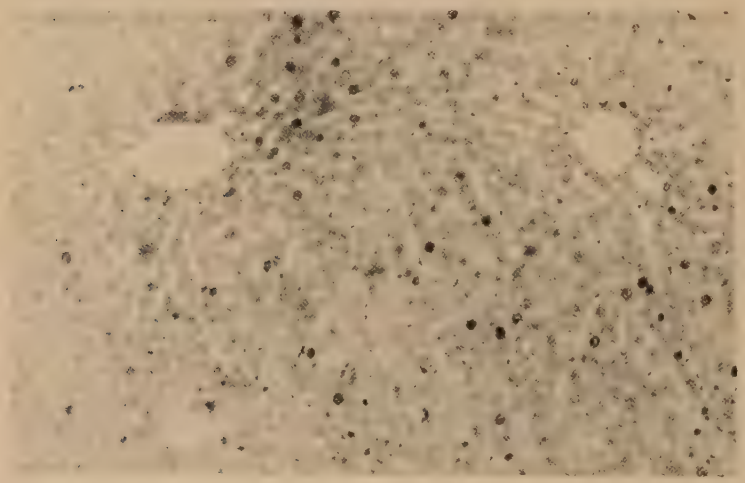
Gruppe C_{II}: (Zweimalige Teilresektion im Abstand von vier Wochen, Daena-Applikation vier Std. nach erster Teilresektion, TdR-H^3-Gabe 25 Std. nach zweiter Teilresektion). Gleichmäßige Markierung im Lobulus bei völliger Aussparung des Gebietes direkt um die Zentralvene.



Gruppe C_{III}: (Zweimalige Teilresektion im Abstand von vier Wochen, Daena-Applikation vier Std. nach erster Teilresektion, TdR-H^3-Gabe 35 Std. nach zweiter Teilresektion). Markierung überwiegend im peripheren und intermediären Lobulusdrittel.



Gruppe D_{II}: (Zweimalige Teilresektion im Abstand von vier Wochen, Daena-Applikation 24 Std. nach erster Teilresektion, TdR-H^3-Gabe 25 Std. nach zweiter Teilresektion)
Fast gleichmäßige Verteilung der Markierung mit Betonung des intermediären Drittels und völliger Aussparung des Gebietes direkt um die Zentralvene.



Gruppe D_{IV}: (Zweimalige Teilresektion im Abstand von vier Wochen, Daena-Applikation 24 Std. nach erster Teilresektion, TdR-H^3-Gabe 45 Std. nach zweiter Teilresektion)
Markierung vorwiegend im intermediären Lobulusdrittel.

L E B E N S L A U F

Am 28.Mai 1947 wurde ich als Sohn des Arztes Dr.med.Karl Ringelmann und seiner Ehefrau Elsa,geborene von Eicken, in München geboren.In München besuchte ich die Volksschule von 1953 bis 1957 und anschließend das Maximiliansgymnasium, wo ich am 19.Juli 1966 die Reifeprüfung ablegte.
Im Wintersemester 1966/67 begann ich in München das Studium der Medizin (Vorphysikum am 26.Oktober 1967,Physikum am 31.März 1969) und legte am 12.Juni 1972 das Staatsexamen an der Ludwig-Maximilians-Universität ab.